



Kobe University Repository : Thesis

学位論文題目 Title	蛍光性配位子を含む銅及びコバルト錯体の合成と還元剤分析への応用
氏名 Author	嵯峨, 慎
専攻分野 Degree	博士（理学）
学位授与の日付 Date of Degree	2015-09-25
公開日 Date of Publication	2017-09-25
資源タイプ Resource Type	Thesis or Dissertation / 学位論文
報告番号 Report Number	甲第6503号
権利 Rights	
URL	http://www.lib.kobe-u.ac.jp/handle_kernel/D1006503

※当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。
著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。

Create Date: 2017-12-18



博 士 論 文

蛍光性配位子を含む銅及びコバルト錯体の
合成と還元剤分析への応用

平成 27年 7月

神戸大学大学院人間発達環境学研究科
嵯峨 慎

目次

第 1 章 序論	1
1.1 はじめに	1
1.2 吸光光度法、蛍光（消光）検出法、化学発光検出法	2
1.3 錯体の立体構造	3
1.4 錯体の配位子置換反応	4
1.5 遷移金属錯体の酸化還元反応	4
1.6 蛍光性配位子をもつ遷移金属錯体の蛍光消光	4
第 2 章 分析試薬としての銅錯体 1 (bis-quinolyl type)	5
2.1 緒言	5
2.2 用いた蛍光団	6
2.3 蛍光性配位子の設計と選択	7
2.4 実験	8
2.4.1 試薬	8
2.4.2 蛍光性配位子の合成	9
2.4.3 [Cu(II)(bqdmn)](NO ₃) ₂ の合成	11
2.4.4 [Cu(II)(bqdmnpn)](NO ₃) ₂ の合成	12
2.4.5 [Cu(II)(bqdmn)](NO ₃) ₂ および [Cu(II)(bqdmnpn)](NO ₃) ₂ の構造解析	13
2.4.6 [Cu(II)(bqb)](NO ₃) ₂ の合成	15
2.4.7 [Cu(I/II)(bqdmn)] ⁺²⁺ および [Cu(I/II)(bqdmnpn)] ⁺²⁺ の吸光スペクトル	15
2.4.8 [Cu(I/II)(bqdmn)] ⁺²⁺ および [Cu(I/II)(bqdmnpn)] ⁺²⁺ の蛍光スペクトル	15
2.4.9 [Cu(II)(bqdmn)] ²⁺ 水溶液をキャリアーとする蛍光検出 FIA	16
2.5 結果と考察	17
2.5.1 配位子の合成	17
2.5.2 [Cu(II)(bqdmn)](NO ₃) ₂ の合成	19
2.5.3 [Cu(II)(bqdmnpn)](NO ₃) ₂ の合成	19
2.5.4 [Cu(II)(bqdmn)](NO ₃) ₂ および [Cu(II)(bqdmnpn)](NO ₃) ₂ の構造解析	20
2.5.4.1 [Cu(II)(bqdmn)(NO ₃)]NO ₃ ·1.5H ₂ O の構造解析	20
2.5.4.2 [Cu(II)(bqdmnpn)](NO ₃) ₂ の構造解析	22

2.5.5	[Cu(II)(bqb)](NO ₃) ₂ の合成	2 4
2.5.6	[Cu(I/II)(bqdmn)] ⁺²⁺ および [Cu(I/II)(bqdmnp)] ⁺²⁺ の吸光スペクトル	2 5
2.5.7	BQDMEN と [Cu(I/II)(bqdmn)] ⁺²⁺ および BQDMPN と [Cu(I/II)(bqdmnp)] ⁺²⁺ の蛍光スペクトル	2 6
2.5.8	[Cu(II)(bqdmn)] ²⁺ 水溶液をキャリアーとする蛍光検出 FIA	2 7
2.5.8.1	亜ジチオン酸ナトリウムの検量線と検出限界	2 8
2.5.8.2	実試料を用いた検出	2 9
2.5.9	[Cu(II)(bqdmnp)] ²⁺ の還元剤検出試薬としての可能性	3 0
2.5.9.1	湧水を用いたヒドラジンの添加回収実験	3 1
2.6	結論	3 2
第 3 章	分析試薬としての銅錯体 2 (mono-quinolyl type)	3 3
3.1	緒言	3 3
3.2	蛍光性配位子の設計と選択	3 4
3.3	実験	3 5
3.3.1	試薬	3 5
3.3.2	蛍光性配位子の合成	3 6
3.3.2.1	QDETA の合成	3 6
	(1) 1,5-Diphtalimido-3-aza-pentan の合成	3 7
	(2) 3-Methylquinolyl-1,5-diphtalimido-3-aza-pentan の合成	3 8
	(3) 4-Quinolyl-diethylenetriamin の合成	3 9
3.3.2.2	BPQA の合成	4 0
3.3.3	銅(II)錯体の合成	4 1
3.3.3.1	[Cu(II)(qdeta)](NO ₃) ₂ の合成	4 1
3.3.3.2	[Cu(II)(bpqa)](NO ₃) ₂ の合成	4 2
3.3.4	[Cu(II)(qdeta)](NO ₃) ₂ および [Cu(II)(bpqa)](NO ₃) ₂ の構造解析	4 3
3.3.5	[Cu(I/II)(qdeta)] ⁺²⁺ および [Cu(I/II)(bpqa)] ⁺²⁺ の吸光スペクトル	4 5
3.3.6	QDETA の蛍光スペクトル	4 5
3.3.7	[Cu(I/II)(qdeta)] ⁺²⁺ および [Cu(I/II)(bpqa)] ⁺²⁺ の蛍光スペクトル	4 5
3.3.8	[Cu(II)(qdeta)] ²⁺ の pH 依存性	4 5

3.3.8.1	蛍光強度からみた水素イオンによる銅(II)錯体の分解	4 5
3.3.8.2	吸光度からみた水素イオンによる銅(II)錯体の分解	4 6
3.3.9	[Cu(II)(qdet _a)] ²⁺ を用いたバッチ法による還元剤の検出	4 6
3.3.9.1	種々の還元剤検出	4 6
3.3.9.2	アスコルビン酸の検出	4 6
3.3.9.3	実試料の検出	4 6
3.4	結果と考察	4 7
3.4.1	蛍光性配位子の合成	4 7
3.4.1.1	QDETA の合成	4 7
	(1) 1,5-Diphtalimido-3-aza-pentan の合成	4 7
	(2) 3-Methylquinolyl-1,5-diphtalimido-3-aza-pentan の合成	4 8
	(3) 4-Quinolyl-diethylentriamin の合成	4 9
3.4.1.2	BPQA の合成	5 0
3.4.2	銅(II)錯体の合成	5 1
3.4.2.1	[Cu(II)(qdet _a)](NO ₃) ₂ の合成	5 1
3.4.2.2	[Cu(II)(bpqa)](NO ₃) ₂ の合成	5 1
3.4.3	[Cu(II)(qdet _a)](NO ₃) ₂ および [Cu(II)(bpqa)](NO ₃) ₂ の構造解析	5 2
3.4.3.1	[Cu(II)(qdet _a)](NO ₃) ₂ の構造解析	5 2
3.4.3.2	[Cu(II)(bpqa)](NO ₃) ₂ の構造解析	5 4
3.4.4	[Cu(I/II)(qdet _a)] ⁺²⁺ および [Cu(I/II)(bpqa)] ⁺²⁺ の吸光スペクトル	5 6
3.4.5	QDETA および BPQA の蛍光スペクトル	5 7
3.4.6	[Cu(I/II)(qdet _a)] ⁺²⁺ および [Cu(I/II)(bpqa)] ⁺²⁺ の蛍光スペクトル	5 8
3.4.7	[Cu(II)(qdet _a)] ²⁺ の pH 依存性	5 9
3.4.7.1	蛍光強度からみた水素イオンによる銅(II)錯体の分解	5 9
3.4.7.2	吸光度からみた水素イオンによる銅(II)錯体の分解	6 0
3.4.8	[Cu(II)(qdet _a)] ²⁺ を用いたバッチ法による還元剤の検出	6 0
3.4.8.1	種々の還元剤検出	6 1
3.4.8.2	アスコルビン酸の検出	6 1
3.4.8.3	実試料を用いた検出	6 2
3.5	結論	6 3

第 4 章 分析試薬としてのコバルト錯体 1 - 還元剤の間接的蛍光検出-	6 4
4.1 緒言	6 4
4.2 コバルト錯体を用いた還元剤の検出原理概要	6 4
4.3 蛍光性配位子の選択	6 7
4.4 還元剤の検出原理	6 8
4.5 実験	6 8
4.5.1 試薬	6 8
4.5.2 コバルト(III)錯体合成	6 9
4.5.2.1 [Co(III)(trien)(hna)](NO ₃)の合成	6 9
4.5.2.2 [Co(III)(trien)(hsna)]の合成	6 9
4.5.3 H ₂ hna および[Co(III)(trien)(hna)] ⁺ の蛍光スペクトル	7 0
4.5.4 H ₂ hna の蛍光強度の pH 依存性	7 0
4.5.5 [Co(III)(trien)(hna)] ⁺ 水溶液をキャリアーとする蛍光検出 FIA	7 0
4.6 結果と考察	7 1
4.6.1 [Co(III)(trien)(hna)]NO ₃ および[Co(III)(trien)(hsna)]の合成	7 1
4.6.2 H ₂ hna および[Co(III)(trien)(hna)] ⁺ の蛍光スペクトル	7 2
4.6.3 H ₂ hna の蛍光強度の pH 依存性	7 3
4.6.4 [Co(III)(trien)(hna)] ⁺ 水溶液をキャリアーとする蛍光検出 FIA	7 4
4.7 結論	7 5
第 5 章 総括	7 6
謝辞	7 8
参考文献	7 9
研究業績	8 0

1 序論

1.1 はじめに

無機化学と有機化学の境界にある金属錯体は近年研究が進み、様々な分野での応用が盛んである。その特徴的な化学反応を利用した新素材や触媒等の研究とともに、それらを複合した機能をもたせた機能性材料の開発も進んでいる。

当研究室では、様々な金属錯体を合成し、それを利用した分析法の開発を行ってきた。本論文は2種類の遷移金属（銅、コバルト）イオンを中心金属とし、その金属錯体の特徴的な性質を利用した分析試薬としての応用について述べている。

銅錯体に関しては、蛍光性配位子を合成し、それを銅(II)イオンに配位させることで蛍光消光している錯種が還元性試料によって還元され、その蛍光が復活することを利用した還元剤の分析法について検討した。

コバルト錯体に関しては、還元性物質によって、配位子が置き換わりにくい III 価錯体から置き換わりやすい II 価錯体へ還元されることで、安定度や置換活性度が変化し、配位子置換により遊離してきた配位子を利用することで還元剤検出が可能か検討した。

1.2 吸光光度法、蛍光（消光）検出法、化学発光検出法

当研究室では主に三つの方法を利用して、試料の分析を行っている。それぞれの分析法について簡単に述べる。

錯体の反応性を利用した吸光光度法は、試料との反応後、中心金属の価数が増減し試薬錯体とは別の錯体が生成し、モル吸光係数や極大吸収波長が増減した場合に利用できるが、副反応として予期しない反応が起こった場合、定量性が低下する可能性がある。しかし、Flow Injection Analysis (FIA) システムを構築したときの流路が単純であり、装置が安価であることを考えれば、吸光光度法も十分価値はあるが、感度という観点からすると蛍光検出法や化学発光検出法の利用が必要であると考えられる。

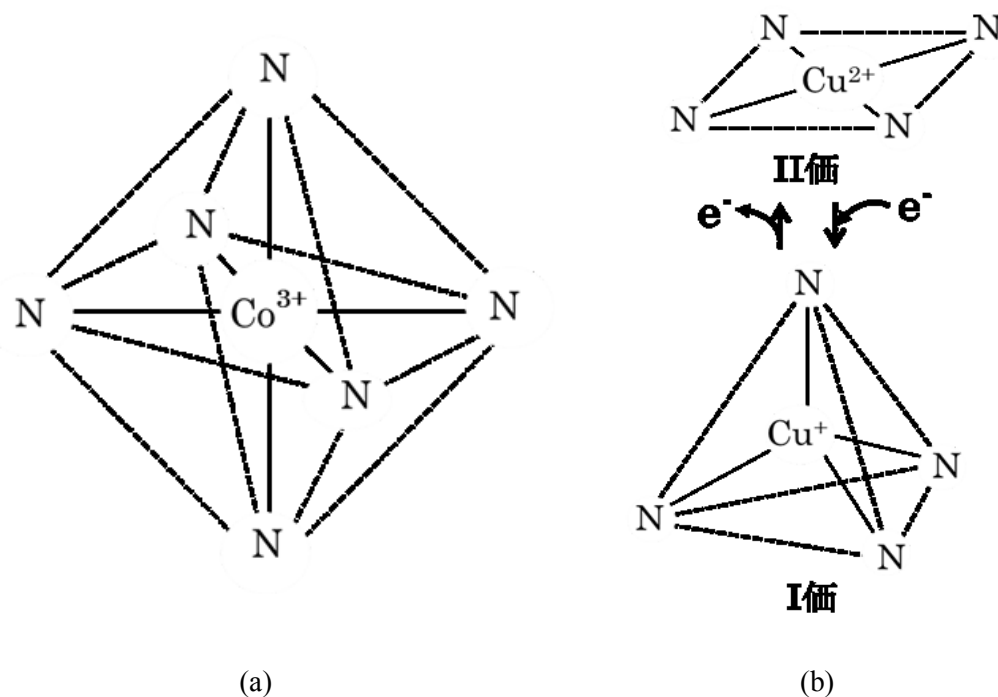
蛍光検出法は吸光光度法と異なり、入射した光と測定する光の波長が異なるため、分光すれば励起光由来の光がカットされ、バックグラウンドが低下し高感度になる。錯体の酸化還元反応を利用した系の場合、利用する遷移金属イオンによってはその中心金属イオンの電子の数によって蛍光が復活、もしくは消光するので還元剤だけでなく酸化剤の検出にも応用可能である。

化学発光を用いた系は三つの中では最も高感度となる可能性がある。しかし、再現性に乏しい場合がある。また化学発光検出を流路で用いる場合は2流路以上必要となる事が多く、その分のコスト(ポンプ等)がかかるが、検出装置は蛍光検出器に比べれば分光する必要がないため単純である。

1.3 錯体の立体構造

錯体化学の創始者である Alfred Werner (1866 - 1919) は遷移金属 (コバルト) 錯体の立体構造 (八面体) を提唱し、それまで説明できなかった $\text{Co}(\text{NH}_3)_4\text{Cl}_3$ の複数の異性体についての結論を与えた。その後の研究で金属錯体は様々な立体構造 (八面体、四面体、直線、三角形等) をとることがわかった。

コバルトやクロム、鉄などその多くの単核錯体は 6 配位、八面体構造 (Fig. 1-1(a)) をとる。しかし、4 配位の銅錯体に関しては、I 価と II 価でその立体構造が変化 (Fig. 1-1(b)) し、I 価では四面体構造、II 価では平面四角形構造をとることが知られている[1]。立体構造の変化による銅錯体からの 2,9-Dimethyl-1,10-phenanthroline のような 2 座配位子の脱離はこれに起因し、立体構造が変化した際に、配位子間に立体障害が生じるためと考えられている。立体障害による脱離を防ぐためには、3 座以上の配位子で銅錯体を設計すべきである。銅錯体では立体構造の変化による幾何学的な要因が錯体の安定性に影響するため、変形の自由度を考慮した配位子を設計する必要がある。



※配位原子をすべて N としている

Fig. 1 Conformation of mononuclear (a) cobalt(III) complex and (b) copper(I/II) complexes.

1.4 錯体の配位子置換反応

錯体の反応には、中心金属に配位している配位子が別の配位子に置き換わる配位子置換反応と呼ばれる反応がある。Henry Taube (1915 - 2005) は、その置き換わる時間が 1 分以内のものを置換活性錯体、それ以上のものを置換不活性錯体と定義した。銅錯体は I 価、II 価ともに置換活性であり、置換不活性な錯体（コバルト(III)錯体、クロム(III)錯体など）と比べて、錯体中の配位子よりも配座の数が多い配位子が存在すると、速やかにそれに置き換わる。逆に考えれば、配位させたい配位子の配座の数が他の配位子のそれより大きければ、高い確率で目的の錯体が生成する。したがって、配位子を単離する際、いったん錯体を経由すれば、配位子合成時の未反応原料などの不純物を取り除くことが容易となる。

1.5 遷移金属錯体の酸化還元反応

酸化剤もしくは還元剤から中心金属イオンへ電子の授受が行われ、中心金属のみが酸化、還元される反応である。錯体の構成原子は変化しないが、中心金属イオンの電子が変化するだけでその物理・化学的性質（安定度や吸収波長、立体構造等）が変化する。電子を授受する物質である還元剤の検出に遷移金属錯体を用いた理由の一つである。

1.6 蛍光性配位子をもつ遷移金属錯体の蛍光消光

一般的に、遷移金属の d や f 軌道に不対電子がある場合、磁性を生じ常磁性と呼ばれている。常磁性は蛍光強度に影響を与え、蛍光消光させることが知られており[2]、常磁性消光と呼ばれる。一方で、典型金属元素である亜鉛(II)やカドミウム(II)は不対電子が存在せず、キレート化蛍光増強 (CHEF) 効果によって蛍光増強されることが報告されている[3-6]。本研究で用いた銅は、II 価では不対電子が存在するが、I 価では存在せず、亜鉛と同様の d^{10} 錯体 (d 軌道に電子が 10 個ある錯体) となる。そのため磁性が生じず（反磁性と呼ばれる）、磁性による消光は理論的に起こらないとされる[7]。

2 分析試薬としての銅錯体 1 (bis-quinolyl type)

2.1 緒言

1.6 で述べたように、理論上、蛍光性配位子をもつ銅(I)錯体の常磁性消光は起こらないはずであるが、実際には銅(I)錯体の消光例が報告[8, 9]されている。これは磁性によらない別の原因によるものと考えられる。

銅(I)錯体の蛍光強度は基底状態 (d^{10}) と励起状態 (d^9) とのエネルギー差に依存すると報告[7]されている。基底状態の d^{10} 錯体が光を吸収して励起状態の d^9 錯体になり、それが基底状態の d^{10} 錯体に戻る際、立体構造の変化にエネルギーが費やされれば蛍光強度は小さくなると考えた。そこで Fig. 2-1 のような作業仮説を立て、それに基づき分子を設計、合成した。もし構造変化に励起エネルギーが費やされるのであれば、あまり変形しにくい、もしくはしない蛍光性配位子を用いれば蛍光強度は大きくなると考えられる。銅(I)錯体の蛍光消光が報告された例は Flexible な配位子をもつ錯体であり、また蛍光が報告されているその多くは、溶媒が有機系溶媒であり、低い温度での測定が多いことから、Fig. 2-1 の作業仮説を裏付けるものと考ええる。

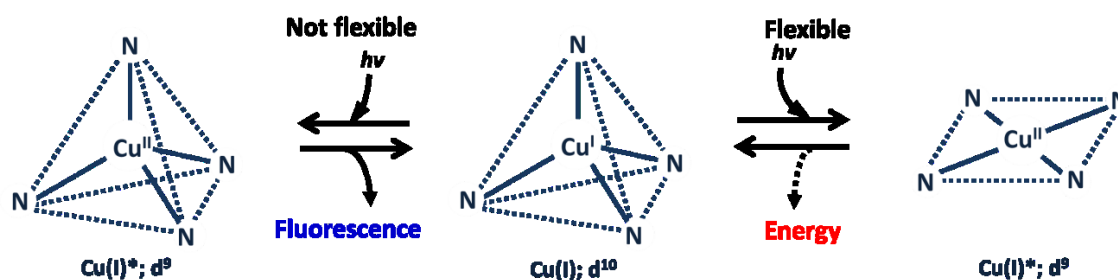
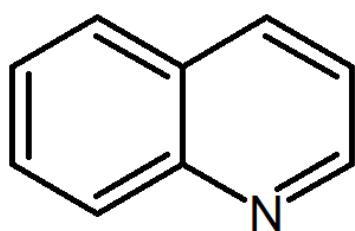


Fig. 2-1 Working hypothesis of fluorescence mechanism from copper(I) complex.

2.2 用いた蛍光団

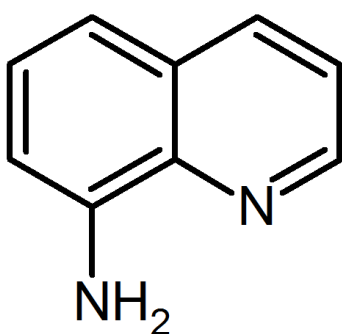
蛍光性配位子を合成するにあたり、蛍光性をもつ官能基を付与する必要がある。本研究ではキノリル基を用いた。Quinoline は複素環式化合物に分類され、蛍光をもち、水にはわずかししか溶けないが、多くの有機溶媒に溶けるため、有機合成に有利な点がある。環に孤立電子対をもつ配位原子 N を含むので金属イオンに配位できる。配位原子 N を複数もつ場合はキレート効果も期待できる。現在では 2-Chloromethylquinoline (Cmq) や 8-Aminoquinoline、8-Hydroxyquinoline (Fig. 2-2)といったキノリン誘導体が販売され比較的安価に入手できる点も合成を行ううえで有利であると言える。本研究では主に Cmq を使用し、 $\text{S}_\text{N}2$ 反応を利用して第 1 級あるいは第 2 級アミンを修飾した。



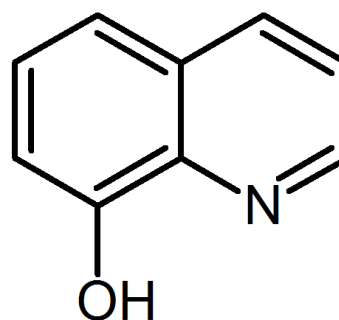
Quinoline



2-Chloromethylquinoline



8-Aminoquinoline



8-Hydroxyquinoline

Fig. 2-2 Chemical structure of quinolone and quinoline derivatives.

2.3 蛍光性配位子の設計と選択

1.3 および 2.1 を踏まえて、ある程度の自由度があり、立体構造が変化する場合、与えられたエネルギー（ここでは励起光）をあまり変形に消費しない 4 座の配位子として、二つのキノリル基を含む *N,N'*-bis(2-methylquinolyl)dimethylethylenediamine (BQDMEN) (Fig. 2-3(a)) を採用した。この配位子はすでに合成されており [10, 11]、NMR も測定されているが、調べた限りではこの配位子をもつ銅錯体に関してはほとんど報告がない [12]。合成は、従来の方法を用いずに新たに開発した方法により行った。

また、BQDMEN より flexible と考えられる *N,N'*-bis(2-methylquinolyl)dimethyl-1, 3-propanediamine (BQDMPN) (Fig. 2-3(b)) と rigid と考えられる *N,N'*-bis(2-methylquinolyl)-1,2-benzene diamine (BQB) (Fig. 2-3(c)) も設計し、検討した。

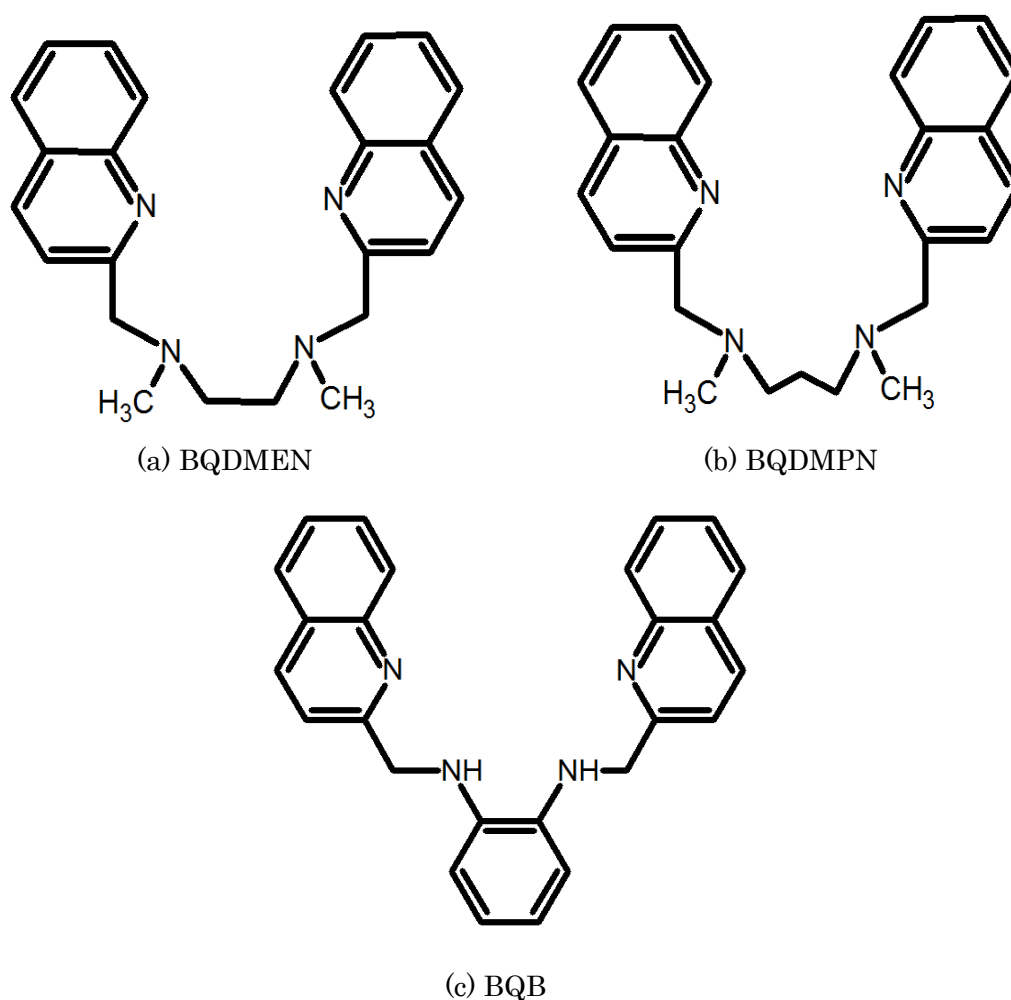


Fig. 2-3 Chemical structure of Bis quinoline derivatives.

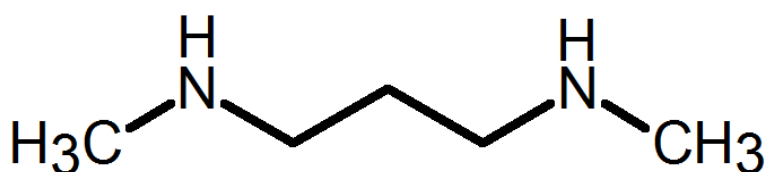
2.4 実験

2.4.1 試薬

BQDMEN の原料となる *N,N'*-Dimethylethylenediamine (Dmen)、BQDMPM の原料となる *N,N'*-Dimethyl-1,3-propanediamine (Dmpn) および Fig. 2-3 の 3 種類の配位子に共通の原料である 2-Chloromethylquinoline (Cmq) は東京化成工業株式会社製を精製せずにそのまま使用した。BQB の原料である *o*-Phenylenediamine (Opn) およびその他の試薬は和光純薬工業株式会社製を精製せずに用いた。配位子の合成に用いた原料の構造式を Fig. 2-4 に示す。



DMEN



DMPN



OPN

Fig. 2-4 Materials for synthesis of fluorescent ligands.

2.4.2 蛍光性配位子の合成

BQDMEN の合成: 水 50 mL とエタノール 150 mL の混合溶媒に水酸化ナトリウム (2.4 g: 0.06 mol) を溶かした。その溶液に Cm (6.42 g: 0.03 mol) と 架橋するための Dmen (1.32 g: 0.015 mol) を溶かした。50°C で攪拌しながら、その溶液の pH を水酸化ナトリウム溶液の滴下により 10 に保った。pH 10 から低下しなくなった時点 (約 3 時間) で反応終了とした。Fig. 2-5 に化学反応式、Fig. 2-6 に実験模式図、Fig. 2-7 に pH の経時変化模式図を示す。

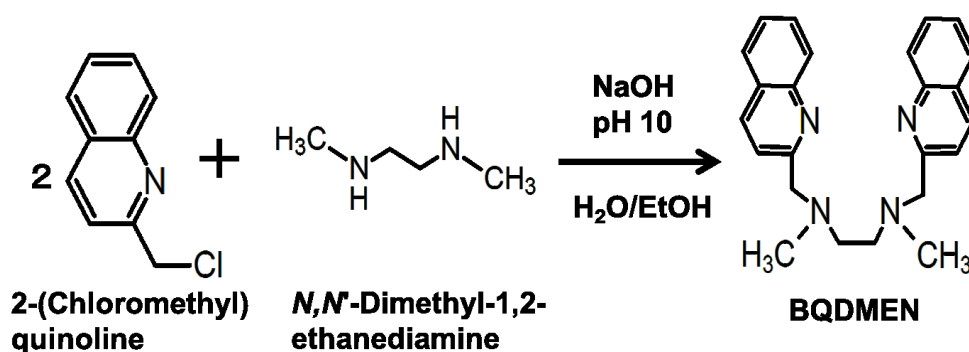


Fig. 2-5 Synthesis of *N,N'*-bis(2-methylquinolyl)dimethylethylenediamine (BQDMEN).

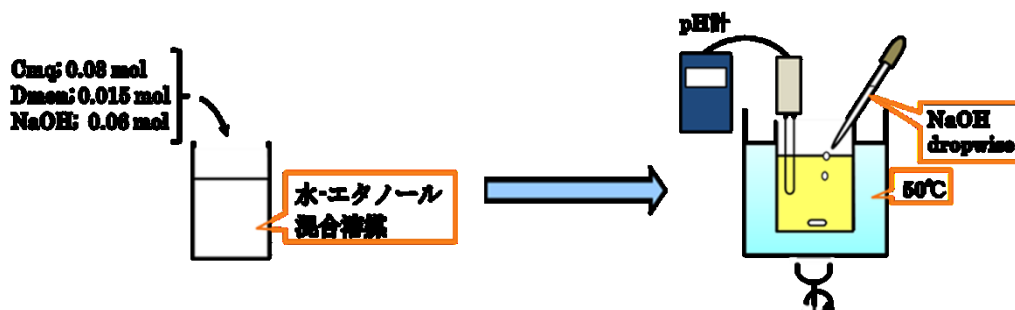


Fig. 2-6 Schematic diagram for synthesis of BQDMEN.

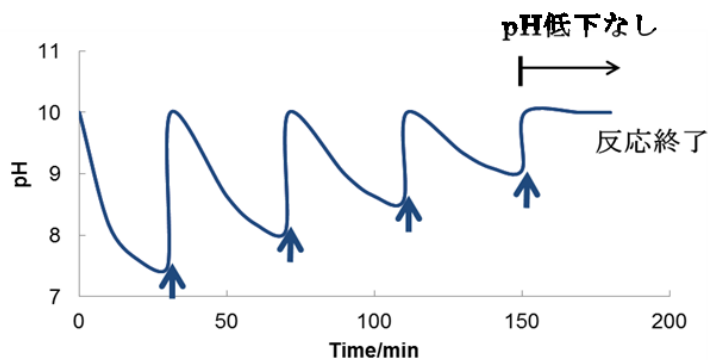


Fig. 2-7 Schematic diagram for time course of pH of reaction solution.

BQDMPN および BQB は、すでに報告されている従来の BQDMEN 合成法 [10] を参考に合成した。

BQDMPN の合成: エタノール 200 mL に Cm_q (4.28 g: 0.02 mol) と架橋するための Dmpn (1.02 g: 0.01 mol) を加え、それに計算量の無水炭酸カリウムを加え攪拌しながら、加熱還流を 6 日間行った。冷却後、反応懸濁液をろ過し、炭酸カリウムをろ別した。ろ液の溶媒を留去したのち、黄褐色の油状物質を石油エーテルで再結晶した。

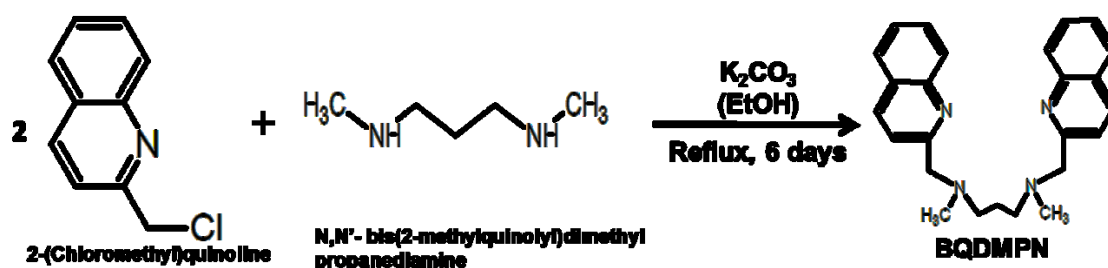


Fig. 2-8 Synthesis of *N,N'*-bis(2-methylquinolyl)dimethylpropanediamine (BQDMPN).

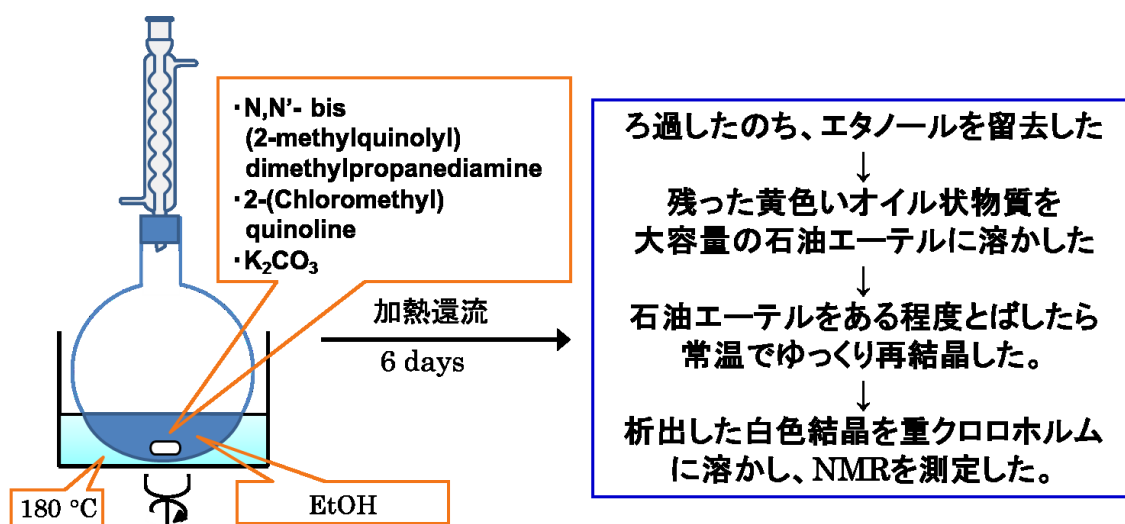


Fig. 2-9 Schematic diagram for synthesis of BQDMPN.

BQB の合成: アセトニトリル 200 mL に Cm_q (4.28 g: 0.02 mol) と架橋するための Opn (1.08 g: 0.01 mol) を加え、それに計算量の無水炭酸カリウムを加え攪拌しながら、加熱還流を 3 日間行った。反応混合物をシリカゲルカラムにより分離し、該当箇所と思われる溶出液を分取したのち、エバポレーターで溶媒を留去した。

2.4.3 [Cu(II)(bqdmn)](NO₃)₂ の合成

2.4.2 の BQDMEN の合成で得られた反応溶液を水で 1 L に希釈し、それに硝酸を滴下して pH 2 に調節した。これを陽イオン交換樹脂 (SP-Sephadex C-25) カラム (3 cm i.d., 20 cm length) に通し、その後、1L の蒸留水で洗った。この樹脂を一旦カラムから取り外し、ビーカーに移した。この懸濁液に水酸化ナトリウム溶液を滴下し、pH 4 に調整したのち、硝酸銅 (2.90 g: 0.012 mol) を含む水溶液を全て加えた。緑色に染まった樹脂を再度カラムに充填し、1 M の硝酸ナトリウム水溶液を流して緑色帯の部分をも溶出させた。この青い溶出液を 50°C で濃縮し、一晩冷蔵庫に放置すると青い結晶が得られた (Fig. 2-10)。

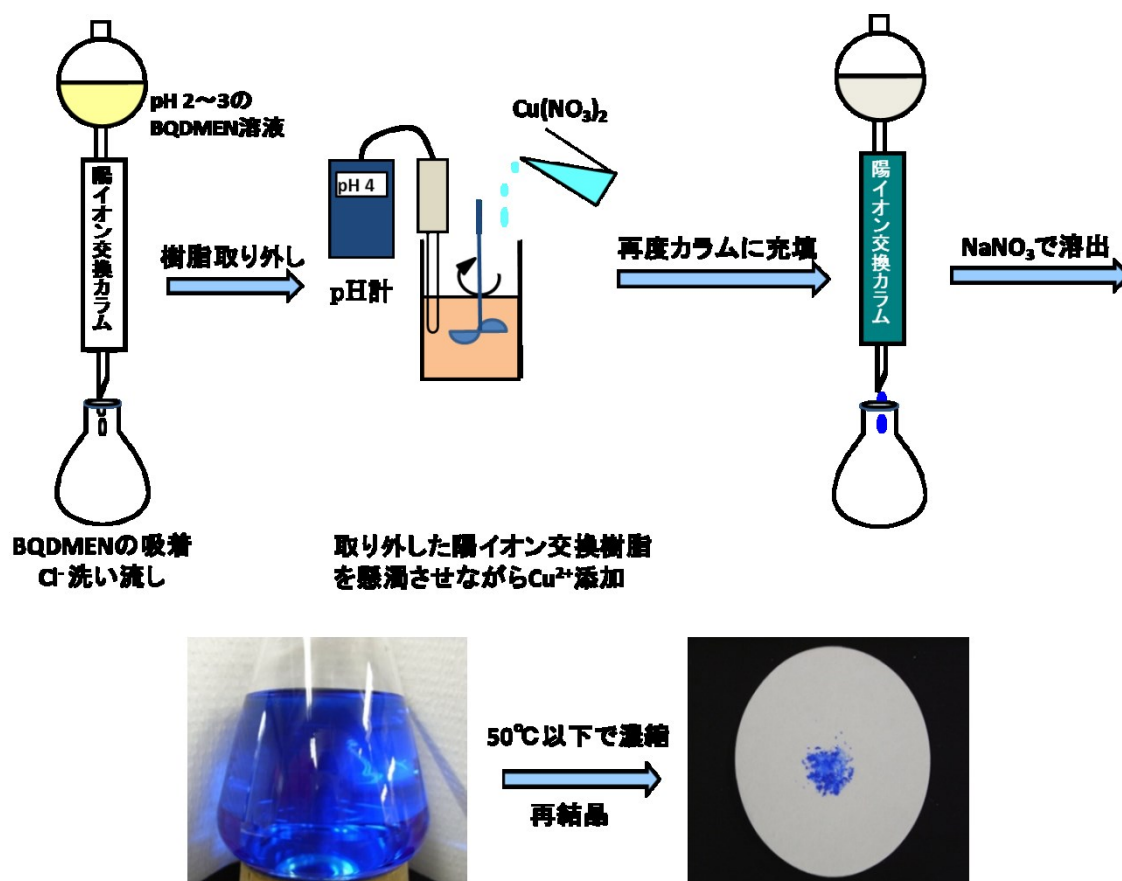


Fig. 2-10 Synthesis of [Cu(II)(bqdmn)](NO₃)₂.

2.4.4 [Cu(II)(bqdmnpn)](NO₃)₂ の合成

2.4.2 で得られた BQDMPN の白色結晶 (3.8 g: 0.01 mol) を 50 % エタノール 150 mL に溶かし、エタノールに溶かした硝酸銅 (2.4 g: 0.01 mol) 溶液を滴下した。その後、反応液を攪拌させながら、NaOH 溶液を滴下し、pH 6 付近に調整した。湯浴で 50 °C、30 分間反応させたのち、吸引ろ過した。ろ液を 1 L の水で希釈し陽イオン交換カラム (SP-Sephadex C-25) に通し吸着させ、不純物を洗いだした。樹脂の青いバンド部分を 0.2 M 硝酸ナトリウム水溶液で溶出させた。濃青色の溶出液がえられ、50°C 以下の温度で濃縮したのち、冷蔵庫に一晩おいて再結晶させた (Fig. 2-11)。

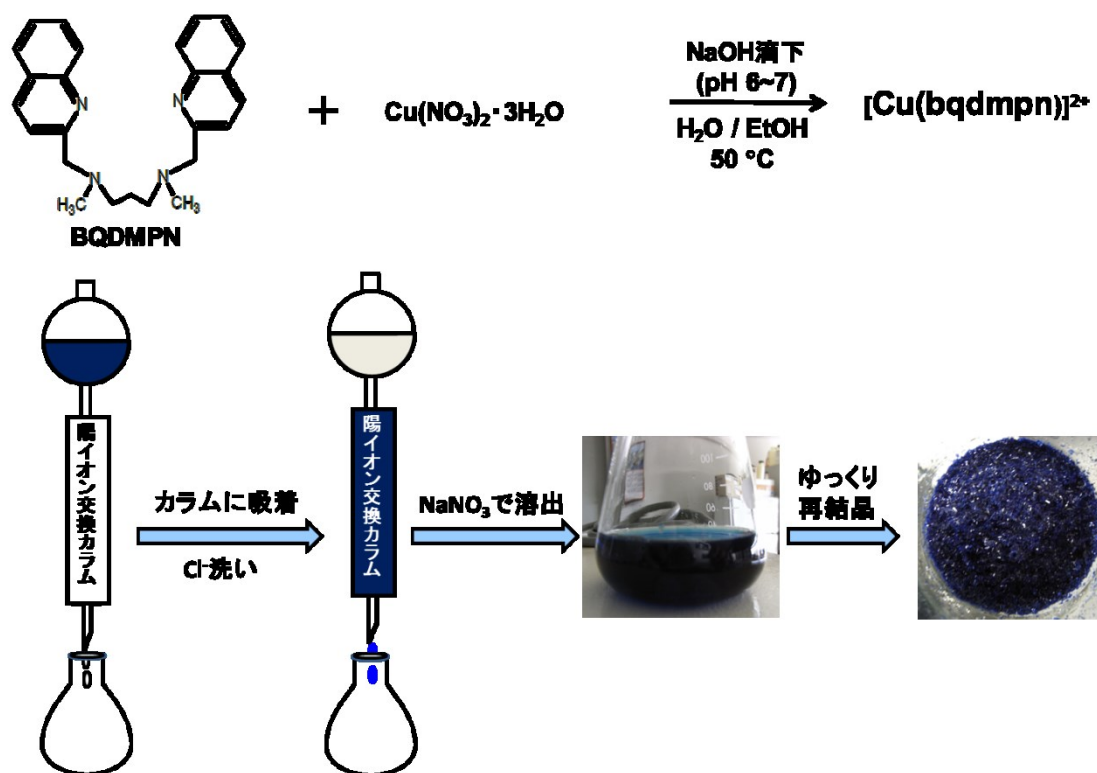


Fig. 2-11 Synthesis of [Cu(II)(bqdmnpn)](NO₃)₂.

2.4.5 [Cu(II)(bqdmn)](NO₃)₂ および [Cu(II)(bqdmnpn)](NO₃)₂ の構造解析

BQDMEN を含む金属錯体の結晶構造はこれまでにいくつか報告[10, 12, 13]されているが、本研究で合成された [Cu(II)(bqdmn)](NO₃)₂ の対イオンは硝酸イオンであり、これまでの報告にある対イオンは塩化物イオンのため異なる結晶と考えられ、また [Cu(II)(bqdmnpn)](NO₃)₂ との比較のため構造解析を試みた。

新規に合成された配位子 BQDMPN を含む金属錯体の結晶構造は報告されておらず、その結晶構造を明らかにするため構造解析を試みた。

2.4.3 および 2.4.4 で得られた青色および濃青色粉末を水溶媒でゆっくり再結晶を行うことで X 線構造解析に適する単結晶を得た。これらの結晶の X 線回折データは、線源に Mo を使用し、多層膜ミラーを備えた Rigaku Saturn724 を用いて 93 K で収集した。構造は直接法とフーリエ解析を用いて解析した。非水素原子は異方的に精密化し、水素原子はライディングモデルを用いて精密化した。それぞれの結晶データを Table 1 に示す。なお、BQDMEN を含む Cu(II)錯体の結晶水は X 線構造解析では決定することができなかったため元素分析の値を用いている。

Table 1 Crystal data and structure refinement for [Cu(II)(bqdmn)(NO₃)]NO₃·1.5H₂O and [Cu(II)(bqdmnpn)](NO₃)₂

Complex	[Cu(II)(bqdmn)(NO ₃)]NO ₃ ·1.5H ₂ O	[Cu(II)(bqdmnpn)](NO ₃) ₂
Empirical formula	C ₂₄ H ₂₉ CuN ₆ O _{7.5} *	C ₂₅ H ₂₈ CuN ₆ O ₆
Formula weight	585.14 *	572.08
Color	blue	blue
Temperature (K)	93	93
Crystal System	triclinic	orthorhombic
Space Group	<i>P</i> -1 (#2)	<i>Pbcn</i> (#60)
Crystal size (mm)	0.250 × 0.070 × 0.020	0.20 × 0.15 × 0.10
Unit cell dimensions		
a (Å)	14.240(7)	12.666(2)
b (Å)	16.160(8)	12.687(2)
c (Å)	19.167(8)	15.113(3)
α (°)	99.176(7)	90
β (°)	95.265(3)	90
γ (°)	113.858(7)	90
V (Å ³)	3922(3)	2428.7(7)
Z	2	4
D _{calc.} (g/cm ³)	1.486	1.564
Radiation (Å)	0.71075	0.71075
μ(Mo K _α) (cm ⁻¹)	8.927	9.660
F (0 0 0)	1824	1188.00
No. of reflections collected	72085	41562
No. of independent reflections	23953	3907
R _{int}	0.0662	0.0570
2θ _{max} (°)	63.3	63.4
Goodness-of-fit on F ²	1.093	1.041
R indices [<i>I</i> > 2σ(<i>I</i>)]	R ₁ = 0.1192	R ₁ = 0.0356
R indices (all data)	R ₁ = 0.1863	R ₁ = 0.0437
	wR ₂ = 0.3806	wR ₂ = 0.0994

*元素分析にて決定

2.4.6 [Cu(II)(bqb)](NO₃)₂ の合成

2.4.2 で得られた BQB と思われる淡黄色固体 (0.39 g: 0.001 mol) をエタノール 50 mL に溶かし、20 mL エタノールに溶かした硝酸銅 (0.24 g: 0.001 mol) 溶液を全て滴下した。得られた反応液を濃縮した。

2.4.7 [Cu(I/II)(bqdmn)]⁺²⁺および[Cu(I/II)(bqdmnp)]⁺²⁺の吸光スペクトル

測定には吸光スペクトルメーター UV-1600 (Shimadzu, 京都) を使用した。酢酸塩緩衝液 (pH 5.5) を溶媒に用いた。銅(I)錯体溶液は、銅(II)錯体溶液に過剰のアスコルビン酸を添加し、70°C の湯浴で 5 分間加温して調製した。

2.4.8 [Cu(I/II)(bqdmn)]⁺²⁺および[Cu(I/II)(bqdmnp)]⁺²⁺の蛍光スペクトル

測定には蛍光スペクトルメーター RF-5300PC (Shimadzu, 京都) を使用した。酢酸塩緩衝液 (pH 5.5) を溶媒に用いた。銅(I)錯体溶液は、銅(II)錯体溶液に過剰のアスコルビン酸を添加し、70°C の湯浴で 5 分間加温して調製した。励起波長は[Cu(I/II)(bqdmn)]⁺²⁺ は 317 nm、[Cu(I/II)(bqdmnp)]⁺²⁺ は 343 nm を採用した。

2.4.9 [Cu(II)(bqdmn)](NO₃)₂ 水溶液をキャリアとする蛍光検出 FIA

[Cu(II)(bqdmn)](NO₃)₂ 水溶液をキャリアとする流路反応型蛍光検出システムを構築した (Fig. 2-12)。送液ポンプは PU-611 (GL science, 東京) を使用し、試料注入部には Rheodyne 7125 (Rheodyne, USA) を用いた。検出は蛍光検出器 FP 920 (Jasco, 東京) で行った。試料として 9 種類 (アスコルビン酸、塩化ヒドロキシルアンモニウム、亜ジチオン酸ナトリウム、チオ尿素、シュウ酸、ピルビン酸ナトリウム、硫酸ヒドラジニウム、亜硫酸ナトリウム、ヒドロキノン) の還元剤を用いた。

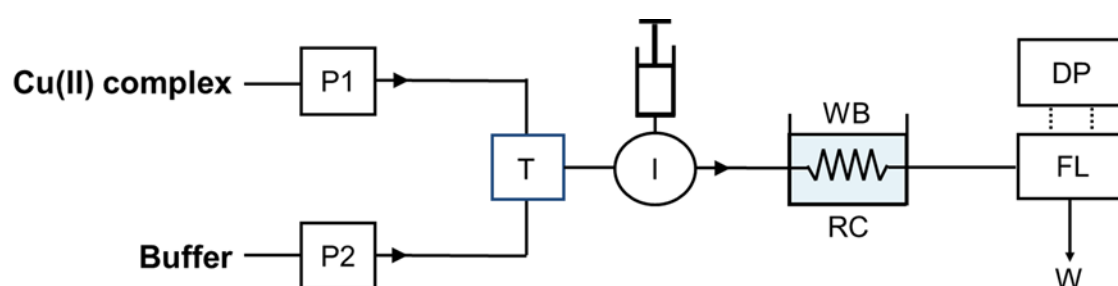


Fig. 2-12 Schematic diagram of the FIA system. P1, P2 = pump; T = mixing tee; I = injector (20 μ L); WB = water bath; RC = reaction coil; FL = fluorescence detector; DP = data processor; W = waste.

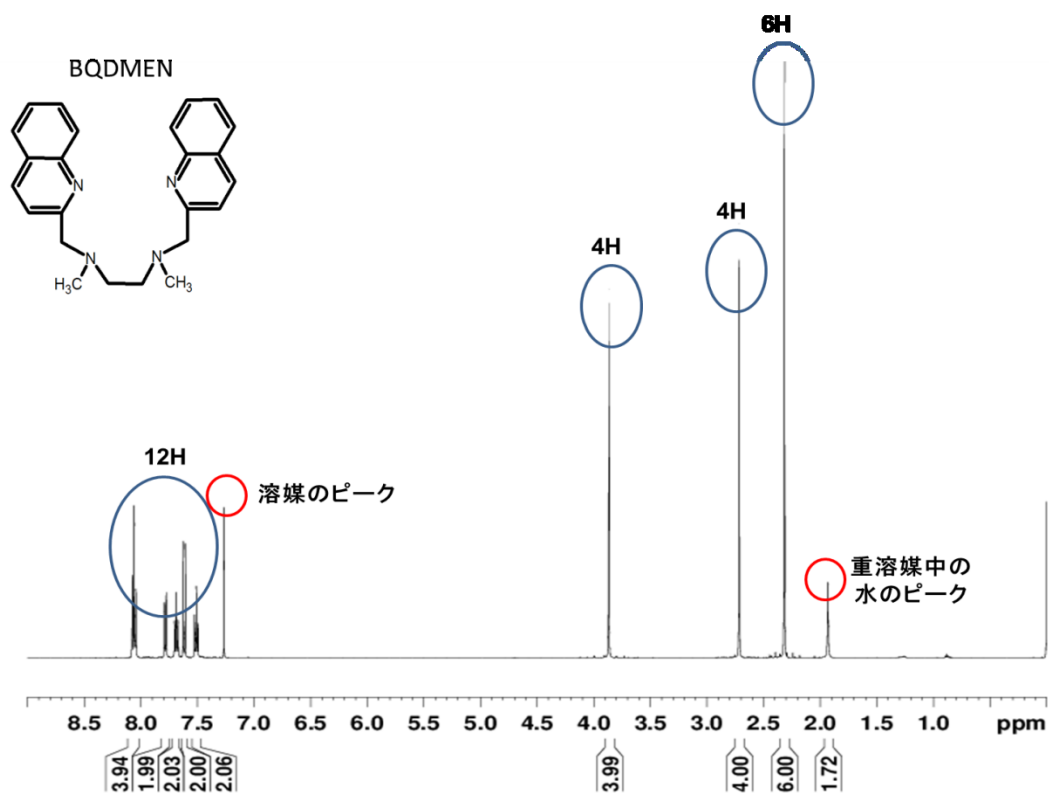
2.5 結果と考察

2.5.1 配位子の合成

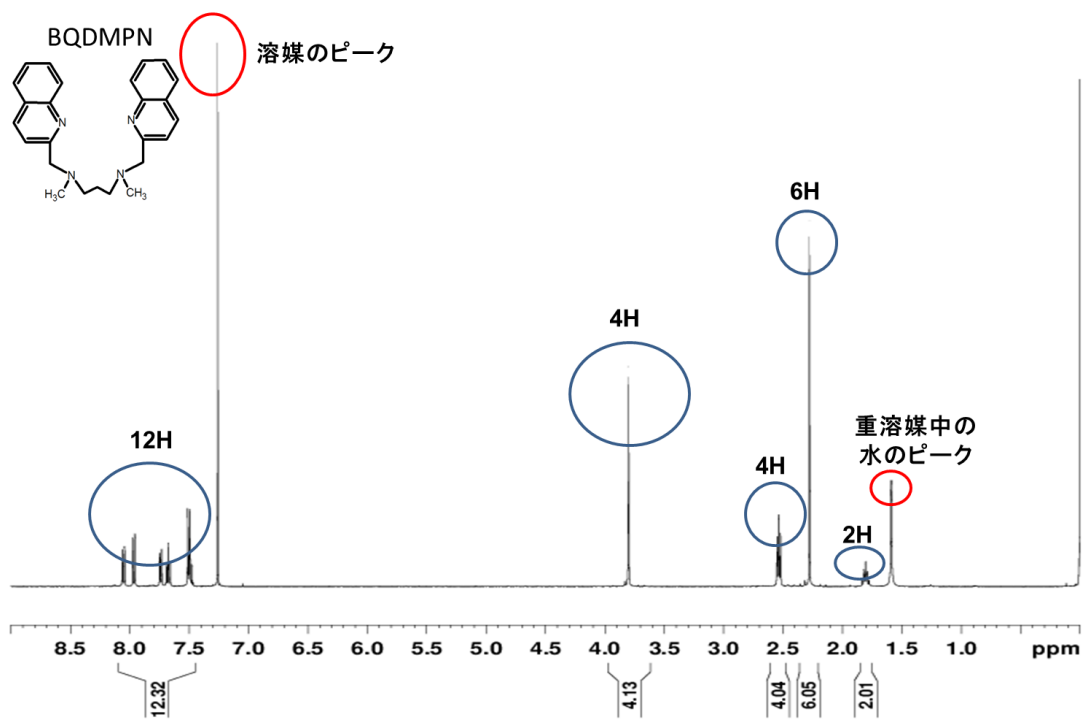
従来の BQDMEN の合成法 [13] では溶媒にアセトニトリルを用い、配位子の精製にも有機溶媒を用いている。同じ条件で合成を試みたが、粘稠体となり、良好な結果が得られなかったため、水系溶媒を用いた合成法を開発した。溶媒には水 - エタノールの混合溶媒を用いた。エタノール単一としなかったのは、反応の追跡に pH 変化を利用するためであり、最初に水酸化ナトリウムを加えたのは原料を溶媒に溶解やすくするためである。反応温度を 50°C としたのは、エタノールの蒸発を防ぐためである。溶媒を留去した後、石油エーテルで再結晶し、白色の固体が得られた。同定は $^1\text{H-NMR}$ を測定し確認した。(Fig. 2-13 (a))

BQDMPN は従来の方法 [10] に習い合成をした。溶媒がエタノールの場合とアセトニトリルの場合の二つの方法があり、当初、効率が良いと考えられていたアセトニトリルを用いた方法では、粘稠体となり、固体として単離できなかったため、エタノールを使用した。アセトニトリルを用いた場合より還流時間を多めにとり、6 日間反応させ、石油エーテルで再結晶することで固体として単離することができた。同定は $^1\text{H-NMR}$ を測定し、確認した。(Fig. 2-13 (b))

BQB に関しては、反応混合物をシリカゲルカラムにより分離し、該当箇所を分取したのちエバポレーターで濃縮することで淡黄色の粉末が得られた。しかし収量は BQDMEN、BQDMPN に比べ、極端に低く (1/10) になった。



(a) BQDMEN



(b) BQDMPN

Fig. 2-13 ^1H -NMR of (a) BQDMEN and (b) BQDMPN

2.5.2 [Cu(II)(bqdmn)](NO₃)₂ の合成

[Cu(II)(bqdmn)](NO₃)₂ の合成の検討中に、Cl⁻ イオンの共存は錯体合成を妨害する可能性があることが見出された。そこで、Cl⁻ イオンが存在しない系での合成法を検討した。配位子合成の際、用いた原料に共有結合の Cl 原子があり、これが合成反応により Cl⁻ イオンとなる。そこで BQDMEN を陽イオン交換樹脂に吸着させ、水洗いで Cl⁻ イオンを除去した。はじめに反応溶液の pH を 2 としたのは、BQDMEN の窒素原子にプロトンを結合させ、BQDMEN に正の電荷をもたせて陽イオン交換樹脂へ吸着させるためである。Cl⁻ イオンを洗い流した後、いったんカラムから取り外したのは、pH を調整し Cu²⁺ イオンに配位させやすくするためである。Cu²⁺ イオンに配位させる際、懸濁液の攪拌には容器の底面と接触するタイプの攪拌子は樹脂を破壊してしまうため使用できなかった。そのため、攪拌棒を上から吊るし、底面と接触をしないように工夫した。調査した限りでは、イオン交換樹脂を用いたこのような錯体合成法は、今まで報告されておらず画期的な方法である。カウンターイオンとして硝酸イオンを用いたのは、分析試薬として用いるには銅(II)錯体の水への溶解度が高いことが条件と考え、採用した。硝酸銅(II)がエタノールに溶解するのも合成のさい、有利と考えられる。硝酸ナトリウム溶液で溶出させた青色溶液を濃縮させることで、青色の板状結晶を得た。Found: C, 49.15; H, 4.66; N, 14.23%. Calcd for [CuC₂₄H₂₆N₄](N₂O₆) · 1.5H₂O: C, 49.27; H, 5.00; N, 14.36%.

2.5.3 [Cu(II)(bqdmnpn)](NO₃)₂ の合成

硝酸銅を添加した後に pH を調整したのは配位子を銅に配位させやすくするためである。高い pH であれば水酸化銅等の副生成物が生じるため pH は 6-7 とした。陽イオン交換カラムに通す前に希釈したのは前述の pH 調整のさいに滴下した水酸化ナトリウムに含まれるナトリウムイオンの影響を抑えるためである。ナトリウムイオン濃度が濃いままカラムに通すと陽イオンの影響で保持されず、[Cu(II)(bqdmnpn)]²⁺ が溶出する可能性があるため、10 倍以上希釈してからカラムに通した。[Cu(II)(bqdmn)](NO₃)₂ と同様の理由で、水洗いで Cl⁻ を洗い出したのち、溶出させた液を濃縮することで濃青色の針状結晶を得た。Found: C, 52.20; H, 4.58; N, 14.53%. Calcd for [CuC₂₅H₂₈N₄](N₂O₆): C, 52.48; H, 4.94; N, 14.69%.

2.5.4 [Cu(II)(bqdmn)](NO₃)₂ と [Cu(II)(bqdmnpn)](NO₃)₂ の構造解析

2.5.4.1 [Cu(II)(bqdmn)(NO₃)]NO₃·1.5H₂O の構造解析

ORTEP 図を Fig. 2-14 に、主な原子間距離並びに結合角を Table 2 に、主な原子の座標と占有率を Table 3 に示す。

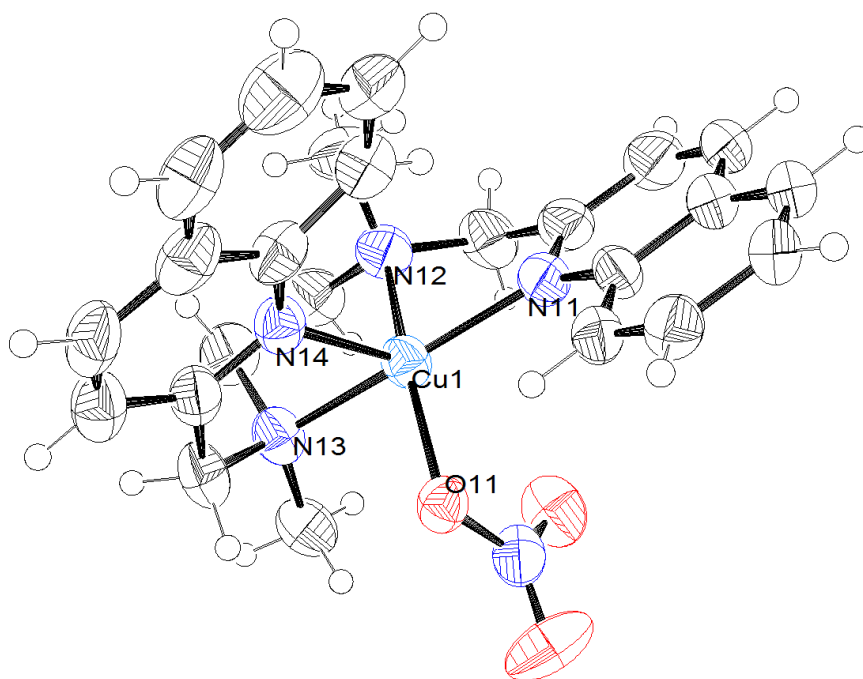


Fig. 2-14 ORTEP view of [Cu(II)(bqdmn)(NO₃)]⁺. Thermal ellipsoids are shown at the 50% probability level.

Table 2 Selected interatomic distances (Å) and bond angles (°)

Atom	Atom	Distance(Å)	Atom	Atom	Distance(Å)		
Cu1	N11	2.009(6)	Cu1	N14	2.229(5)		
Cu1	N12	2.032(5)	Cu1	O11	2.033(4)		
Cu1	N13	2.044(6)					
Atom	Atom	Atom	Angle(°)	Atom	Atom	Atom	Angle(°)
N11	Cu1	N12	81.8(2)	N12	Cu1	O11	163.73(16)
N12	Cu1	N13	86.6(2)	N14	Cu1	N11	112.19(18)
N13	Cu1	O11	87.88(19)	N14	Cu1	N12	105.3(2)
O11	Cu1	N11	100.5(2)	N14	Cu1	N13	80.5(2)
N11	Cu1	N13	164.7(2)	N14	Cu1	O11	88.79(18)

Table 3 Selected atomic coordinates, $B_{\text{iso}}/B_{\text{eq}}$, and occupancy

Atom	x	y	z	B_{eq}	occ
Cu1	0.25842(5)	0.58183(5)	0.69262(3)	3.426(15)	1
O11	0.1700(3)	0.4832(3)	0.7427(2)	3.59(6)	1
N11	0.3967(4)	0.5770(3)	0.7139(3)	3.80(8)	1
N12	0.3284(4)	0.6501(4)	0.6180(3)	4.20(9)	1
N13	0.1233(4)	0.5791(4)	0.6434(3)	3.94(9)	1
N14	0.2425(4)	0.6885(3)	0.7738(3)	3.60(8)	1

$$B_{\text{eq}} = 8/3 \pi^2 (U_{11}(\text{aa}^*)^2 + U_{22}(\text{bb}^*)^2 + U_{33}(\text{cc}^*)^2 + 2U_{12}(\text{aa}^*\text{bb}^*)\cos\gamma + 2U_{13}(\text{aa}^*\text{cc}^*)\cos\beta + 2U_{23}(\text{bb}^*\text{cc}^*)\cos\alpha)$$

以上の結果から錯陽イオンである $[\text{Cu}(\text{II})(\text{bqdmn})(\text{NO}_3)]^+$ において、中心金属イオンである銅には BQDMEN の四つの窒素原子と硝酸イオンの酸素原子が一つ配位している。それらは BQDMEN の第3級アミンの窒素 N12 と N13、キノリルの窒素 N11 と N14、そして硝酸イオンの O11 である。結合距離から Cu1 と四つの原子(N11, N12, N13, O11) 間距離(2.009-2.004Å)とくらべ、Cu1-N14(2.229Å)は離れた位置にあった。得られた原子座標から平面 N11N12N13 と O11 との距離は約 0.0036 Å となる。距離が短いため四つの原子(N11, N12, N13, O11)はほぼ同一平面にあると考えられる。さらに平面 N11Cu1N12 と平面 N13Cu1O11 の二面角は約 19° となり、その Cu1 の位置は平面 N11N12N13O11 から浮いた位置にあることがわかる。また結合角 $\angle\text{N14Cu1N11} = 112.19^\circ$, $\angle\text{N14Cu1N12} = 105.3^\circ$, $\angle\text{N14Cu1N13} = 80.5^\circ$, $\angle\text{N14Cu1O11} = 88.79^\circ$ から N14 は N11N12N13O11 を含む平面から Cu1 に対して垂直に伸ばした直線上からずれた位置にあることがわかる。以上のことから、その錯陽イオンの幾何構造は銅を中心として、N11N12N13O11 を底面とし N14 を頂点とする歪んだ四角錐構造であると結論付けた。

2.5.4.2 [Cu(II)(bqdmnpn)](NO₃)₂ の構造解析

[Cu(II)(bqdmnpn)](NO₃)₂ の ORTEP 図を Fig. 2-15 に、主な原子間距離並びに結合角を Table 2 に、主な原子の座標と占有率を Table 3 に示す。

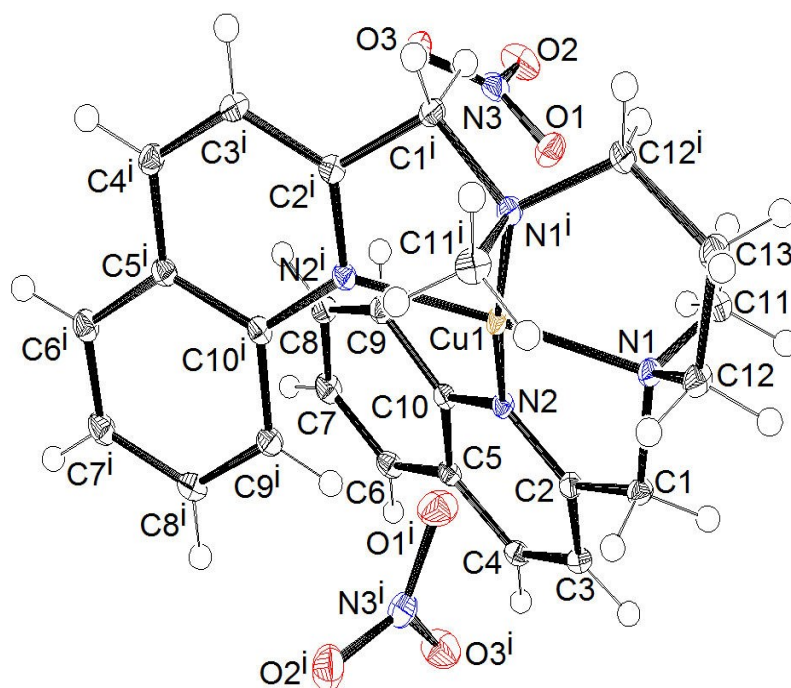


Fig. 2-15 ORTEP view of [Cu(II)(bqdmnpn)](NO₃)₂. Thermal ellipsoids are shown at the 50% probability level. Atom labels with symmetry code, i: $-x, y, -z + 1/2$.

Table 4 Selected interatomic distances (Å) and bond angles (°)

Atom	Atom	Distance(Å)	Atom	Atom	Distance(Å)		
Cu1	N1	2.0455(10)	Cu1	N2	2.0268(9)		
Cu1	O1	2.6734(11)					
Atom	Atom	Atom	Angle(°)	Atom	Atom	Atom	Angle(°)
N1	Cu1	N1 ⁱ	93.82(4)	N1	Cu1	N2	81.39(4)
N1	Cu1	N2 ⁱ	171.82(4)	N2	Cu1	N2 ⁱ	104.12(4)

Symmetry code, i: $-x, y, -z + 1/2$

Table 5 Selected atomic coordinates, $B_{\text{iso}}/B_{\text{eq}}$, and occupancy

Atom	x	y	z	B_{eq}	occ
Cu1	0.00000	0.25211(2)	0.25000	0.816(6)	1/2
O1	-0.16894(8)	0.25283(7)	0.35603(7)	1.684(17)	1
N1	0.06883(8)	0.14197(8)	0.33026(6)	0.879(15)	1
N2	0.05796(7)	0.35033(7)	0.34395(6)	0.796(15)	1

$$B_{\text{eq}} = 8/3 \pi^2 (U_{11}(aa^*)^2 + U_{22}(bb^*)^2 + U_{33}(cc^*)^2 + 2U_{12}(aa^*bb^*)\cos \gamma + 2U_{13}(aa^*cc^*)\cos \beta + 2U_{23}(bb^*cc^*)\cos \alpha)$$

結晶中には $[\text{Cu(II)(bqdmnpn)}]^{2+}$ と硝酸イオンが 1:2 の割合で存在している。錯陽イオンである $[\text{Cu(II)(bqdmnpn)}]^{2+}$ において、中心金属イオンである銅には四つの窒素原子が配位している。それらは BQDMPN の第 3 級アミンの窒素 N1 と N1^i 、キノリルの窒素 N2 と N2^i である。Cu1–N2 (N2^i) の結合距離 (2.0268 Å) と Cu1–N1 (N1^i) の結合距離 (2.0455 Å) の比較から、キノリルの窒素が第 3 級アミンの窒素と比べ、より強く結合していることがわかる。結合角 ($\angle \text{N1Cu1N1}^i = 93.82(4)^\circ$, $\angle \text{N1Cu1N2}$ ($\angle \text{N1}^i\text{Cu1N2}^i$) = $81.39(4)^\circ$, $\angle \text{N2Cu1N2}^i = 104.12(4)^\circ$) から、銅イオンは対角線 N1– N2^i と N2– N1^i の交点上に位置していないことがわかる。また原子座標から平面 N1Cu1N1^i と N2Cu1N2^i の二面角は約 171° となり、5 つの原子 (N1, N1^i , N2, N2^i , Cu1) はほぼ同一平面上にあるといえる。対イオンである硝酸イオンの酸素原子 (O1, O1^i) はその座標からほぼ銅の頂点位置にあるが、原子間距離 (Cu1–O1 (O1^i) = 2.6734 Å) が長いことから銅に配位していないと考えられる。以上のことから、その錯陽イオンの幾何構造は銅を中心として N1, N1^i , N2, N2^i を頂点とする歪んだ平面四角形構造であると結論付けた。

二つの錯体の構造を比較すると $[\text{Cu(II)(bqdmnpn)}]^{2+}$ は一般的に知られている銅 II 価錯体の形状である平面四角形構造をとるのに対し、第 3 級アミンを架橋するメチレン鎖が一つ少ない BQDMEN を含む $[\text{Cu(II)(bqdmn)(NO}_3)]^+$ は平面四角形構造ではなく、四角錐構造をとっている。このことから、BQDMEN は BQDMPN に比べ、四面体構造から平面四角形構造へと変化しにくい配位子であると考えられる。

2.5.5 [Cu(II)(bqb)](NO₃)₂ の合成

BQB の溶解度を考慮して、エタノール溶媒中で合成を試みた。硝酸銅を添加した反応溶液は緑色を呈したが、濃縮しても固体として単離できなかった。考えられる理由として、BQB の配位能が BQDMEN や BQDMPN と比べ、小さい可能性があること、BQB のほかに不純物が多く含まれていたため銅への配位を阻害された事などが考えられる。BQB はその原料である Opn が二つの第 1 級アミン部位を持つことから、副生成物が多数存在する可能性があり、BQB を合成、単離する時点で、一番良い条件を構築する必要がある。今回、銅錯体を固体として単離できなかったため、後述の光学的性質を調べる実験や試薬の評価は行っていない。

2.5.6 $[\text{Cu(I/II)}(\text{bqdmn})]^{+/2+}$ および $[\text{Cu(I/II)}(\text{bqdmnpn})]^{+/2+}$ の吸光スペクトル

測定結果を Fig. 2-16 に示す。

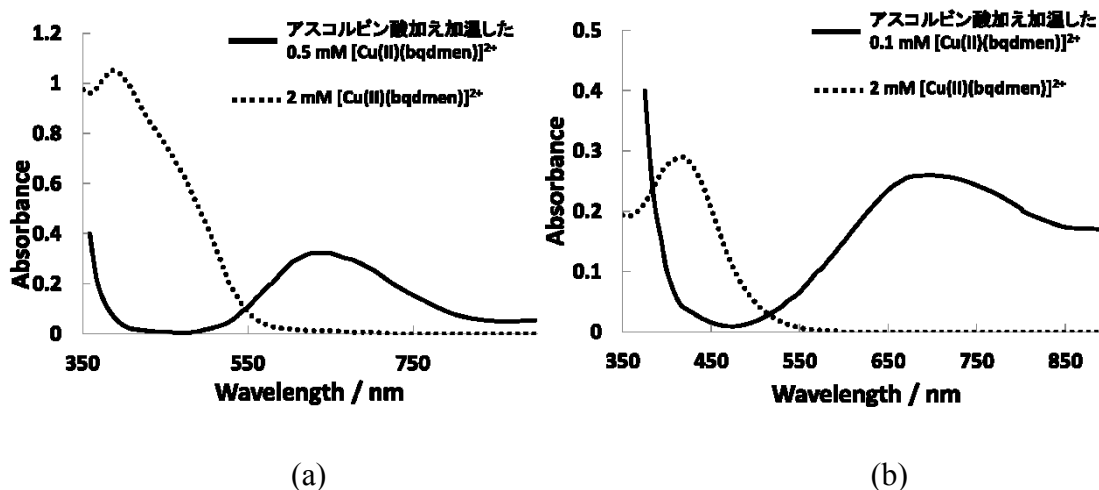


Fig. 2-16 (a) Absorption spectra of the 2 mM $[\text{Cu(II)}(\text{bqdmn})]^{2+}$ (—) and 0.5 mM $[\text{Cu(I)}(\text{bqdmn})]^{+}$ (---). Solvent; 50 mM acetate buffer (pH 4.5). (b) Absorption spectra of the 2 mM $[\text{Cu(II)}(\text{bqdmnpn})]^{2+}$ (—) and 0.1 mM $[\text{Cu(I)}(\text{bqdmnpn})]^{+}$ (---). Solvent; 50 mM acetate buffer (pH 5.5).

$[\text{Cu(II)}(\text{bqdmn})]^{2+}$ 、 $[\text{Cu(II)}(\text{bqdmnpn})]^{2+}$ 両錯体とも長波長側に極大吸収波長があり、それぞれ 642 nm と 694 nm であった。またモル吸光係数 ϵ はそれぞれ 160 と 130 程であった。I 価錯体になると吸収波長は短波長側へシフトし、387 nm と 417 nm に極大が表れた。またモル吸光係数が増大し、それぞれ 2100 と 2900 程であった。吸光光度法に応用可能ではあるが、通常用いられる試薬では、 ϵ が 10000 以上であり、感度不足と考えられる。

2.5.7 BQDMEN と[Cu(I/II)(bqdmn)]⁺²⁺および BQDMPN と[Cu(I/II)(bqdmnpn)]⁺²⁺の 蛍光スペクトル

Fig. 2-17 に BQDMEN と[Cu(I/II)(bqdmn)]⁺²⁺および BQDMPN と[Cu(I/II)(bqdmnpn)]⁺²⁺の
蛍光スペクトルを示す。[Cu(I)(bqdmn)]⁺では 403 nm 付近に極大蛍光波長がみられ、
[Cu(II)(bqdmn)]²⁺の蛍光強度はベースラインに一致し、完全消光している事を示してい
る。また、[Cu(I)(bqdmnpn)]⁺では 453 nm 付近に極大蛍光波長がみられ、[Cu(II)(bqdmnpn)]²⁺
の蛍光強度もベースラインに一致していた。これらの結果は、[Cu(II)(bqdmn)]²⁺もしく
は[Cu(II)(bqdmnpn)]²⁺水溶液を FIA のキャリアーに使用すれば還元剤の検出が可能である
ことを示す。両錯体とも銅(I)錯体の蛍光スペクトルはフリーの配位子に比べ、長波長側
にシフトし強度も増強したが[Cu(I)(bqdmn)]⁺に比べ、[Cu(I)(bqdmnpn)]⁺の増強の度合は
低かった。Cu(II)錯体を還元した溶液の蛍光スペクトルは両錯体とも、フリーの配位子
溶液の極大蛍光波長と還元剤を添加して得られた溶液の極大蛍光波長が異なっている
ことから、銅(II)錯体を還元した溶液の蛍光は遊離した配位子の蛍光ではなく銅(I)錯体
の蛍光であると判断した。

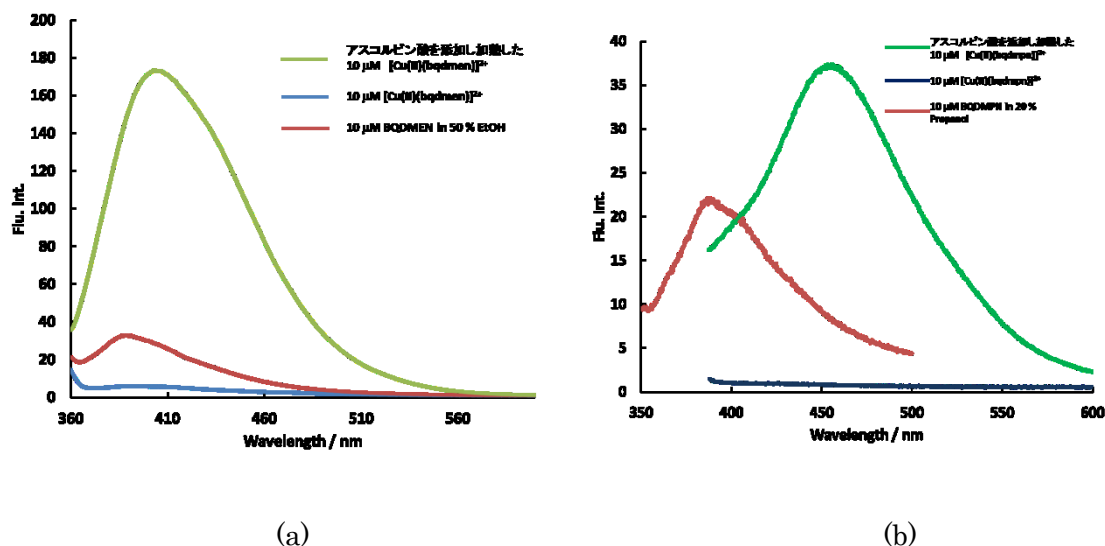
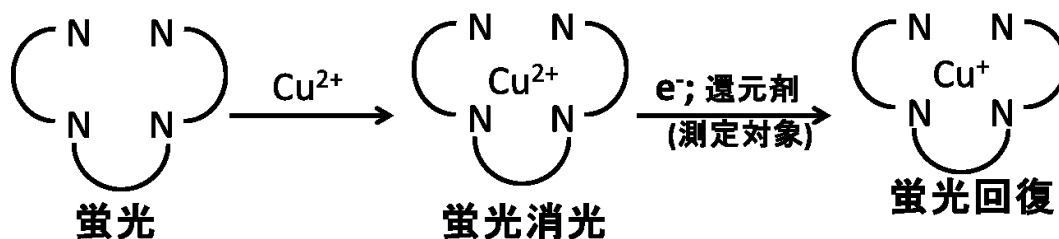
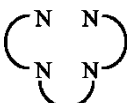


Fig. 2-17 (a) Fluorescence spectra of BQDMEN (at Ex 313 nm) and
[Cu(I/II)(bqdmn)]⁺²⁺ (at Ex 317 nm). Solvent: 10 mM acetate buffer (pH 5.5). (b)
Fluorescence spectra of BQDMPN (at Ex 271 nm) and [Cu(I/II)(bqdmnpn)]⁺²⁺ (at Ex 343
nm). Solvent: 10 mM acetate buffer (pH 5.5).

2.5.8 [Cu(II)(bqdmn)]²⁺水溶液をキャリアとする蛍光検出 FIA

銅(I)錯体が蛍光を示せば、次の原理を用いることにより還元剤の定量ができる。



※ BQDMEN を  で表している。

当初、単流路での応用を検討していたが、この錯体はアルカリに弱く pH 7 以上からベースラインが上昇し、感度が低下した。銅錯体から遊離してきた蛍光性配位子の蛍光によるものと考えられる。そのため弱酸(pH 4–5.5)条件で行ったが、流路では還元剤との反応がほとんど起こらず、蛍光検出できなかった。そこで単流路での検討を断念し、インジェクターの直前でアルカリ溶液と混合させ、できるだけ錯体の分解を抑えた 2 流路型 FIA を構築した。Fig.2-12 の流路に還元剤を打ち込んだ結果の一部を Fig. 2-18 に示す。流速の検討の結果、錯体の流速が 0.3 ml/min、緩衝液の流速 0.3 ml/min のときもっとも強い蛍光が観測された。また、銅錯体濃度は合流後 0.08 mM になるときがもっとも S/N の値がよかったため 0.16 mM を採用した。サンプルはすべて 20 μM であり、ヒドロキノンはその自体が蛍光をもつため、除外した。

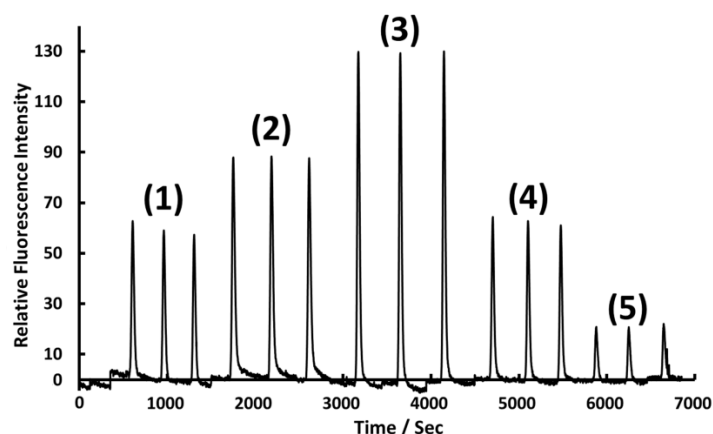


Fig. 2-18 Peak profiles of (1) sodium dithionite, (2) ascorbic acid, (3) hydrazinium hydrogensulfate, (4) hydroxylammonium chloride, and (5) sodium sulfite obtained with [Cu(I/II)(bqdmn)]⁺²⁺ system.

2.5.8.1 亜ジチオン酸ナトリウムの検量線と検出限界

亜ジチオン酸ナトリウムが pH 9 のとき強い蛍光を示したため、亜ジチオン酸ナトリウムについて検出限界を調べた。Fig. 2-19 において左から 6、8、10、20、40、50、80 μM の亜ジチオン酸ナトリウムのピークプロファイルである。それぞれの濃度で三回測定しその平均を値とした。

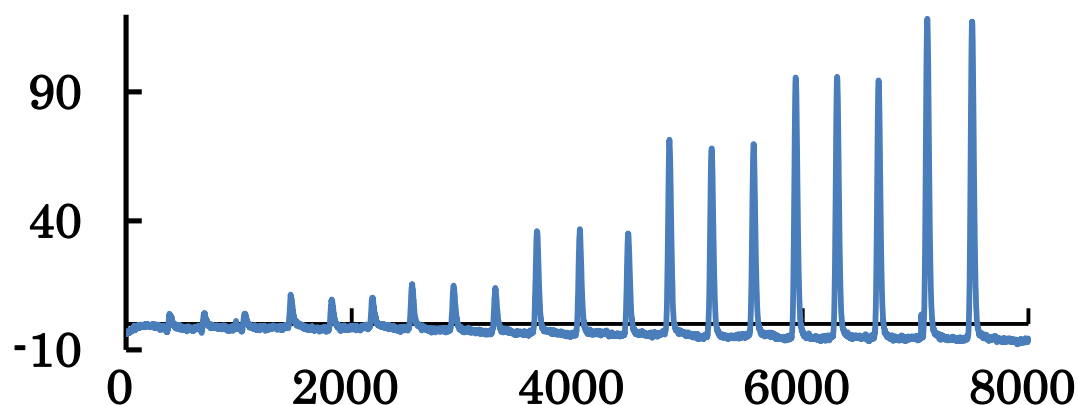


Fig. 2-19 Peak profile of sodium dithionite.

2 μM 以下では負のピークとなった。3 μM では $S/N < 3$ のため、除外した。また 40 μM 以上の濃度では直線から外れたので除外した。亜ジチオン酸ナトリウムの検量線の直線範囲は 6–20 μM であり、 R^2 値は 0.9967、検出限界は 4 μM となった。

2.5.8.2 実試料を用いた検出

亜ジチオン酸ナトリウムは染料や繊維、食品の還元剤や漂白剤等に使われている。本研究では含有表記があったレンコンとタケノコの水煮を用いて、検出可能か検討した。

まずタケノコならびにレンコンの水煮 30 g をミキサーで破碎し、破碎したそれぞれの断片をろ紙でつつみ、しぼった。そのしぼり汁をそれぞれ 250 mL にメスアップした。それらの溶液をさらにメンブレンフィルターでろ過し、それぞれのろ液を Fig. 2-12 の流路に打ち込んだ。結果を Fig. 2-20 に示す。

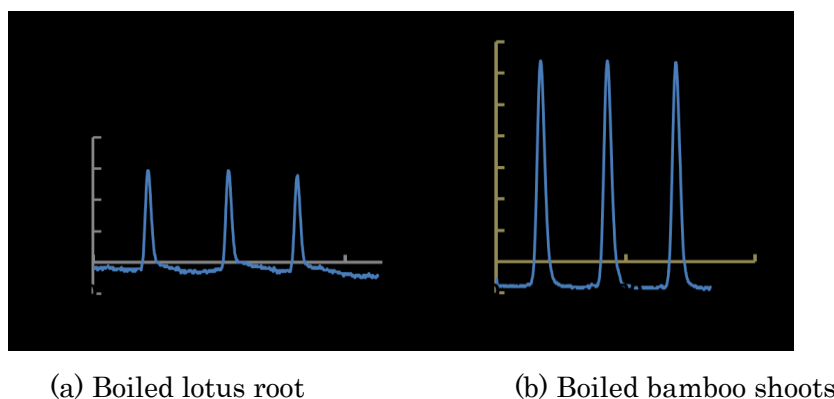


Fig. 2-20 Peak profile

両試料ともに蛍光検出ができた。しかし、レンコン、タケノコの水煮には亜ジチオン酸ナトリウムの他に、酸化防止剤としてビタミン C (アスコルビン酸) も含んでおり、Fig. 2-18 の結果から、アスコルビン酸とも反応するため、どちら由来の蛍光かわからない。もし FIA で検出をするのであれば、条件検討をさらにすすめ亜ジチオン酸ナトリウムしか反応しない条件を見出さなくてはならない。実際には別の条件では、他の還元剤が高感度で検出される可能性があるため、選択的に亜ジチオン酸ナトリウムだけを反応させることは難しい。そのほかの方法としては HPLC 装置で流路を構築し、カラムを用いて還元剤を分離する方法がある。しかし、サンプルが長時間カラムに保持されるとピーク幅が広がり、また還元性物質が分解し感度の低下をまねく恐れがある。実験結果は示さないが、陰イオン交換カラムと ODS カラムを用いて還元剤の分離を試みた。アスコルビン酸と亜ジチオン酸ナトリウムは同じ 2 価の陰イオン同士のため、陰イオン交換カラムでは明確に分けることができなかった。イオン対試薬を用いて ODS カラムによりアスコルビン酸と亜ジチオン酸ナトリウムを分離することに成功したが、感度が FIA のときより 1/10 に低下し、ピーク幅が広がった。

2.5.9 [Cu(II)(bqdmnpn)]²⁺の還元剤検出試薬としての可能性

Fig. 2-17(b)の結果から、[Cu(II)(bqdmnpn)]²⁺も分析試薬として応用できる可能性がある。Fig. 2-12 のキャリアを[Cu(II)(bqdmnpn)]²⁺に変更し、[Cu(II)(bqdmnpn)]²⁺のときと同様に条件検討を行った結果、合流後の pH が 9、錯体の流速が 0.1 ml / min、緩衝溶液の流速が 0.1 ml / min、反応コイルの水浴の温度が 70°C のときもっとも強い蛍光が観測された。また、銅錯体濃度は合流後 0.1 mM になるときがもっとも S / N の値が良好だったため 0.2 mM を採用した。以上の結果を用いて、それぞれ 1 mM の還元剤(亜ジチオン酸ナトリウム、アスコルビン酸、硫酸ヒドラジニウム、塩化ヒドロキシルアンモニウム、亜硫酸ナトリウム)をサンプルとして用いた結果を Fig. 2-21 に示す。

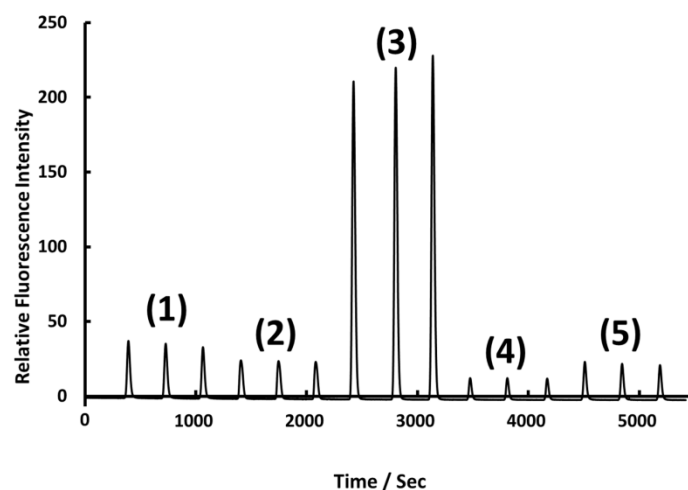


Fig. 2-21 Peak profiles of (1) sodium dithionite, (2) ascorbic acid, (3) hydrazinium hydrogensulfate, (4) hydroxylammonium chloride, and (5) sodium sulfite obtained with [Cu(I/II)(bqdmnpn)]⁺²⁺ system.

検討した還元剤のなかではヒドラジンの反応性が高かった。ヒドラジンとその誘導体はロケット燃料、農薬の合成原料、脱酸素剤、樹脂の硬化剤等、様々な分野で使用されている。一方で、ヒドラジンは毒性が強く、多くの変異原生試験で陽性を示したことが報告されている。また、国際がん研究機関(IARC)ではグループ 2 B に分類している。

そこでヒドラジンの検量線を作成した。直線範囲は 50–1000 μ M で R^2 値は 0.9994 の良好な直線となり、検出限界 15 μ M という結果が得られた。

2.5.9.1 湧水を用いたヒドラジンの添加回収実験

ヒドラジンを含む実試料を入手できなかったため、湧水を用いた添加回収実験を行った。湧水は兵庫県西宮市廣田神社のもの(Water 1)と、兵庫県神戸市灘区永手町のもの(Water 2)を使用した。それぞれの濃度で3回測定し、その平均を測定値とした。Table 6 にその結果を示す。

Table 6 Analytical results for hydrazine in spiked spring water samples

Sample	Added/ μM	Found ^a / μM	Recovery ^a , %
Water 1	100	110 ± 2	110 ± 2
	300	329 ± 4	109 ± 1
	600	676 ± 8	113 ± 1
Water 2	100	100 ± 4	100 ± 4
	300	371 ± 4	124 ± 1
	600	677 ± 12	113 ± 2

a. Values are means for three determination \pm standard deviation.

以上の結果から再現性は良好な結果が得られたが、回収率に関しては 10–20% ほどのずれを生じた。これはそれぞれの湧水に含まれる妨害物質によるものと考えられる。現時点ではその物質は特定できていないが、蛍光強度が増える傾向から、何らかの還元性物質が影響しているものと考えられる。

2.6 結論

調査した限りでは、本研究の銅(I)と BQDMEN ならびに BQDMPN の錯体は単純な構造の単核錯体であるにも関わらず、水溶液中でも蛍光性であることが見出された希少な例である。

この蛍光特性を $[\text{Cu(II)(bqdmn)}]^{2+}$ もしくは $[\text{Cu(II)(bqdmnpn)}]^{2+}$ 水溶液をキャリアーとする還元剤の2流路反応型蛍光検出に応用した。実用性を考慮すると更なる感度の向上が必要と考えられるが、きわめて珍しい例であり分析化学的にも、また錯体化学的にもこれらの錯体についてさらに詳細に研究する価値がある。検討した還元剤のうち、 $[\text{Cu(II)(bqdmn)}]^{2+}$ については食品添加物に用いられている亜ジチオン酸ナトリウムを、 $[\text{Cu(II)(bqdmnpn)}]^{2+}$ については強い反応性を示したヒドラジンを選択し、FIA 検出条件を検討した。アスコルビン酸や塩化ヒドロキシルアンモニウム等の他の還元剤にも反応するため、還元剤の分離を行うか、他の還元剤が反応しない条件を見出す必要がある。

Zn(II)錯体においてキノリル部位にメトキシ基を導入することで蛍光増強することが報告[13]されており、BQDMEN ならびに BQDMPN にメトキシ基を導入すれば感度上昇の可能性があると考えられる。

構造解析により、BQDMEN を含む銅錯体は BQDMPN を含む銅錯体と比べ、平面四角形に変形しにくいと考えられる。ここで Cu(I)錯体の蛍光強度の減少は基底状態(四面体構造)の Cu(I)錯体が励起エネルギーを受け励起状態(平面四角形構造)となり再び基底状態(四面体構造)に戻るさい蛍光としてではなく、構造変形のためのエネルギー消費によるものと仮定した。平面四角形構造をとりにくい Cu(I)錯体は基底状態から励起状態になったさいの変形に励起エネルギーが消費されにくいと考えられ、平面四角形構造をとりやすい Cu(I)錯体よりも強い蛍光を示すと考えられる。実際、 $[\text{Cu(I)(bqdmn)}]^+$ の蛍光強度が $[\text{Cu(I)(bqdmnpn)}]^+$ の強度よりも大きい事実は作業仮説を裏付けるものと考えられる。

次章では、作業仮説に基づき、励起 Cu(I)錯体が平面四角形構造をとりにくい分子構造をもつ蛍光性配位子を設計している。

3 分析試薬としての銅錯体 2 (mono-quinolyl type)

3.1 緒言

前章にて水溶液中で蛍光を示すような銅(I)錯体を見出すことができた。しかし、分析感度という点では、さらに改善する余地があった。感度が低い理由として考えられるのは、中心金属の銅(II)イオンが還元剤によって還元されていない可能性と、Fig. 2-1 の作業仮説に基づくならば、構造変形による励起エネルギーの消費が考えられる。それぞれの解決策として、中心金属イオン (Cu^{2+}) と還元剤を接触させるために、銅(II)錯体の構造が嵩高くない配位子の設計をすること、もう一つは励起された銅(I)錯体から、基底状態の銅(I)錯体に変化するさい、構造変化のすくない(もともと励起 Cu(I)錯体が正四面体にちかい)配位子の設計 (Fig. 3-1) をすることが考えられる。本章では後者のような配位子を設計、合成し銅イオンに配位させることで分析試薬としての性能向上に努めた。

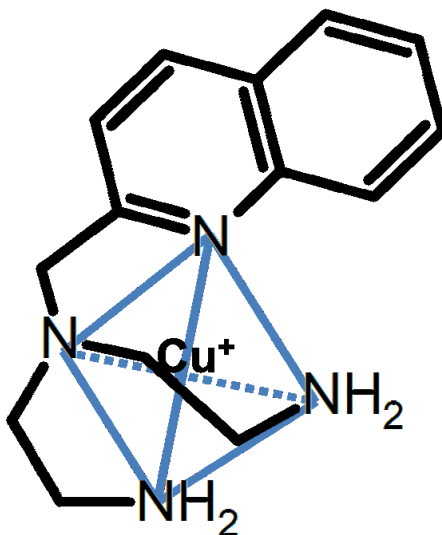


Fig. 3-1 Schematic diagram of a tetrahedral copper complex.

3.2 蛍光性配位子の設計と選択

2.1 および 3.1 を踏まえて、基底状態の Cu(I)錯体が四面体構造をとりやすい配位子として、Diethylenetriamine (Deta) を母骨格にもつ配位子を新規に設計した。Deta の第 2 級アミン部位にキノリル基を修飾した 3-(2-Methylquinolyl)diethylenetriamine (QDETA) は四面体構造をとりやすい四座の蛍光性配位子であると考えられる。この配位子とその銅錯体は調べた限りではまだ報告がない新規化合物である。

既知ではあるが、QDETA の類縁化合物として、Bis(2-methylpyridyl)amine (Bmpa)の第 2 級アミン部位にキノリル基を修飾した Bis(2-methylpyridyl)(2-methylquinolyl)amine (BPQA)[14]も合成し、その銅錯体も合成した。

キノリル基が三つある Tris(2-methylquinolyl)amine (TQA)[14]は蛍光強度の増大が期待できるが嵩高い配位子のため、還元剤との反応性が低くなることを危惧し、採用を見送った。

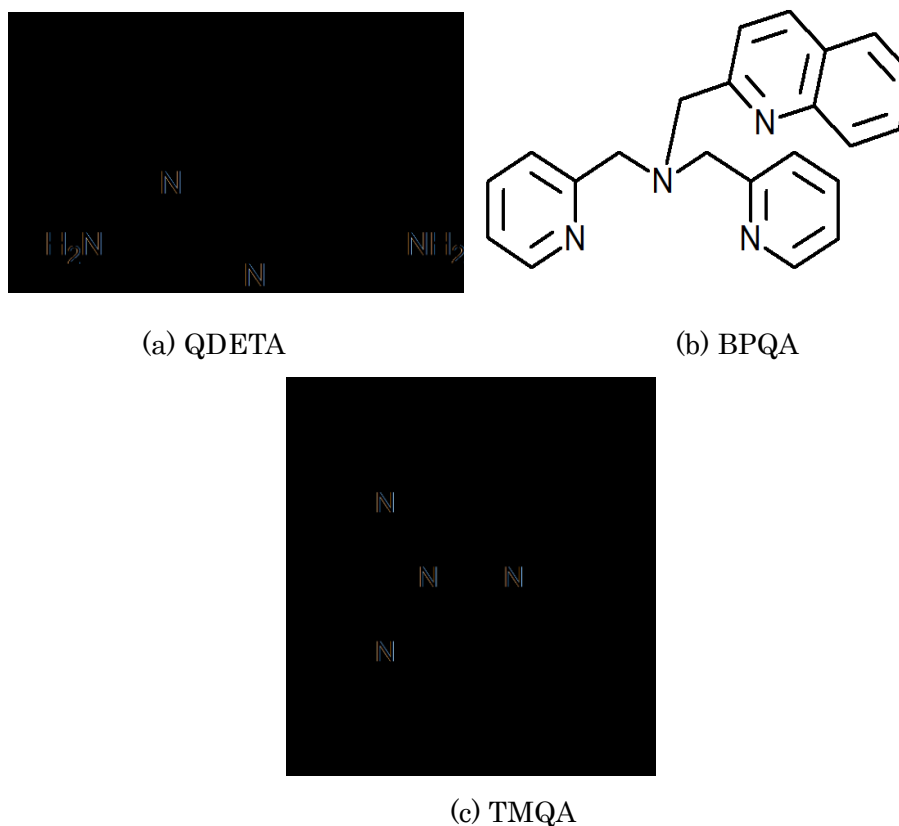


Fig. 3-2 Chemical structure of fluorescence ligands.

3.3 実験

3.3.1 試薬

QDETA の原料となる Deta、BPQA の原料となる Bmpa および蛍光性の Cmq は東京化成工業株式会社製を精製せずにそのまま使用した。保護基として用いた無水フタル酸およびその他の試薬は和光純薬工業株式会社製を精製せずに用いた。配位子の合成に用いた原料の構造式を Fig. 3-3 に示す。

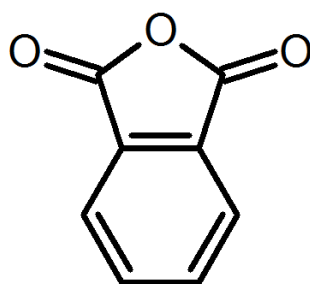
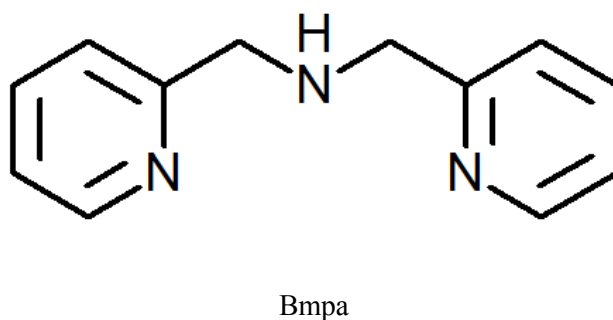
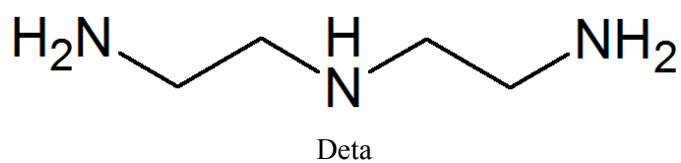


Fig. 3-3 Materials for synthesis of fluorescent ligands.

3.3.2 蛍光性配位子の合成

3.3.2.1 3-(2-Methylquinolyl)diethylenetriamine (QDETA)の合成

合成スキームを Fig. 3-4 に示す。

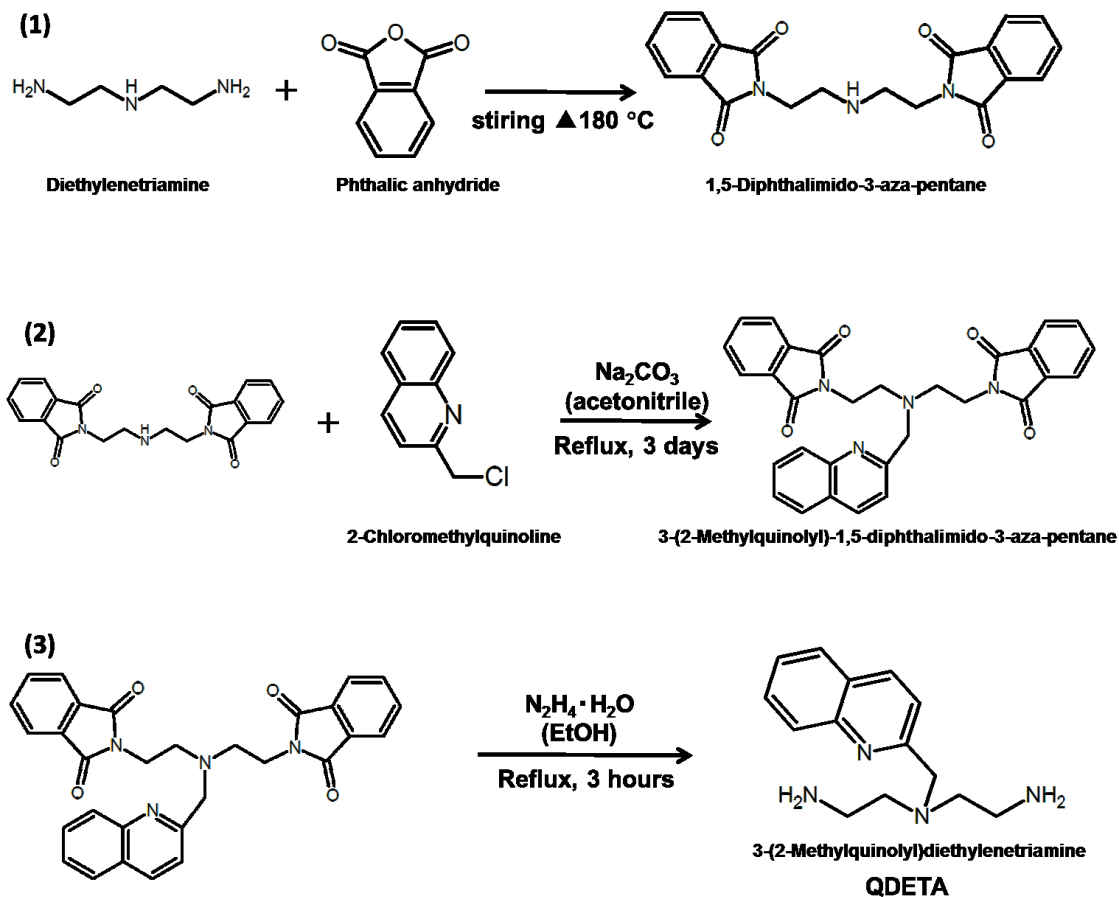


Fig. 3-4 Reaction scheme of 3-(2-Methylquinolyl)diethylenetriamine (QDETA).

(1)から順番に(3)まで、3段階の経路をへて目的物を合成した。それぞれの合成について詳しく説明する。

(1) 1,5-Diphthalimido-3-aza-pentane の合成

従来の方法[15]を参考に合成を行った。無水フタル酸 (30 g: 0.2 mol) を 180 °C 付近まで加熱し、融解させた。それを攪拌しながら、0.1 mol Deta (10 g: 0.1 mol) を滴下漏斗で、徐々に滴下した。反応が進むと液は無色透明から黄濁、最終的には褐色となった。滴下が終わり褐色のケーキ状の固体となったら、一旦加熱をやめ室温まで冷却したのち、キシレンを加えて数回沸騰させた。キシレンを除去したのち、メタノールを加え、数回沸騰させた。メタノールとの懸濁液をろ過し、白色の固体を乾燥し、目的物を得た。同定は $^1\text{H-NMR}$ で行った。反応模式図を Fig. 3-5 に示す。

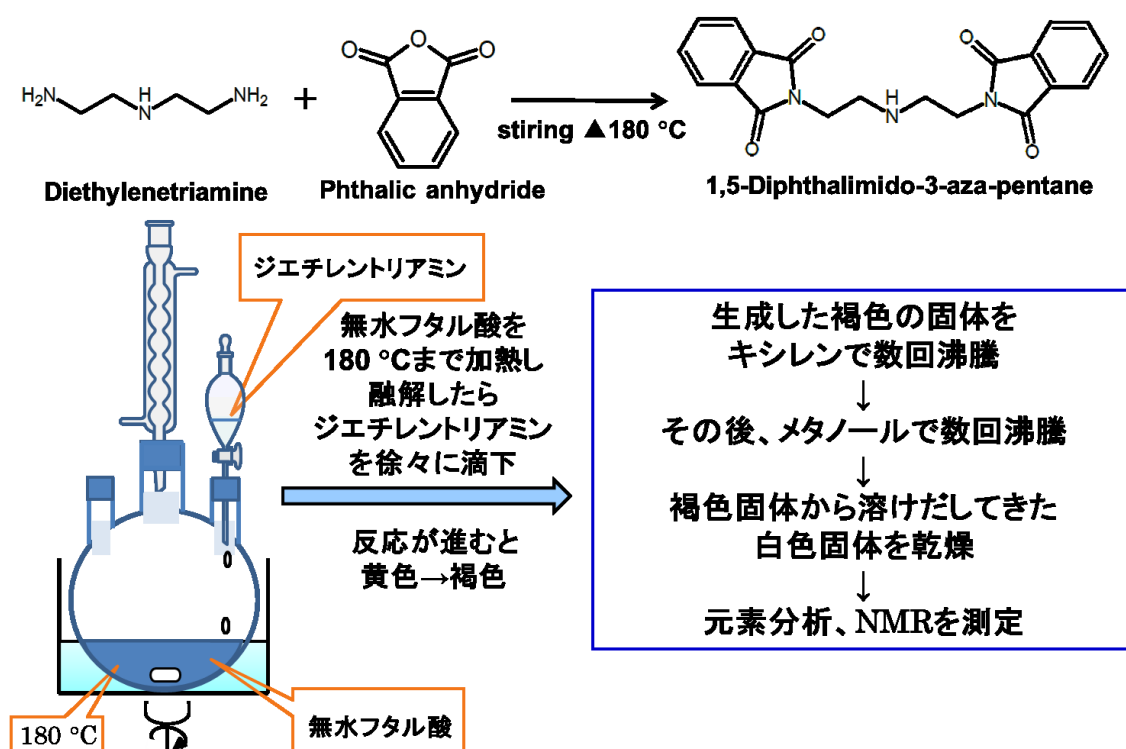


Fig. 3-5 Synthesis of 1,5-Diphthalimido-3-aza-pentane.

(2) 3-(2-Methylquinolyl)-1,5-dipthalimido-3-aza-pentane の合成

アセトニトリル 150 mL に(1)で合成した 1,5-Dipthalimido-3-aza-pentane (18 g: 0.05 mol) と炭酸カリウム (21 g: 0.15 mol) を加え、加熱還流を 3.5 日間行った。室温まで冷却し、薄層クロマトグラフィー (TLC) で原料が消失したことを確認したのち、炭酸カリウムをろ別した。アセトニトリルを留去したのち、油状物質をジクロロメタンで数回溶媒抽出を行った。有機相を硫酸ナトリウムで脱水した。硫酸ナトリウムをろ別したのち、ジクロロメタンを留去した。得られた油状物質をメタノールに溶かして再結晶した。白色固体が得られた。同定は $^1\text{H-NMR}$ で行った。反応模式図を Fig. 3-6 に示す。

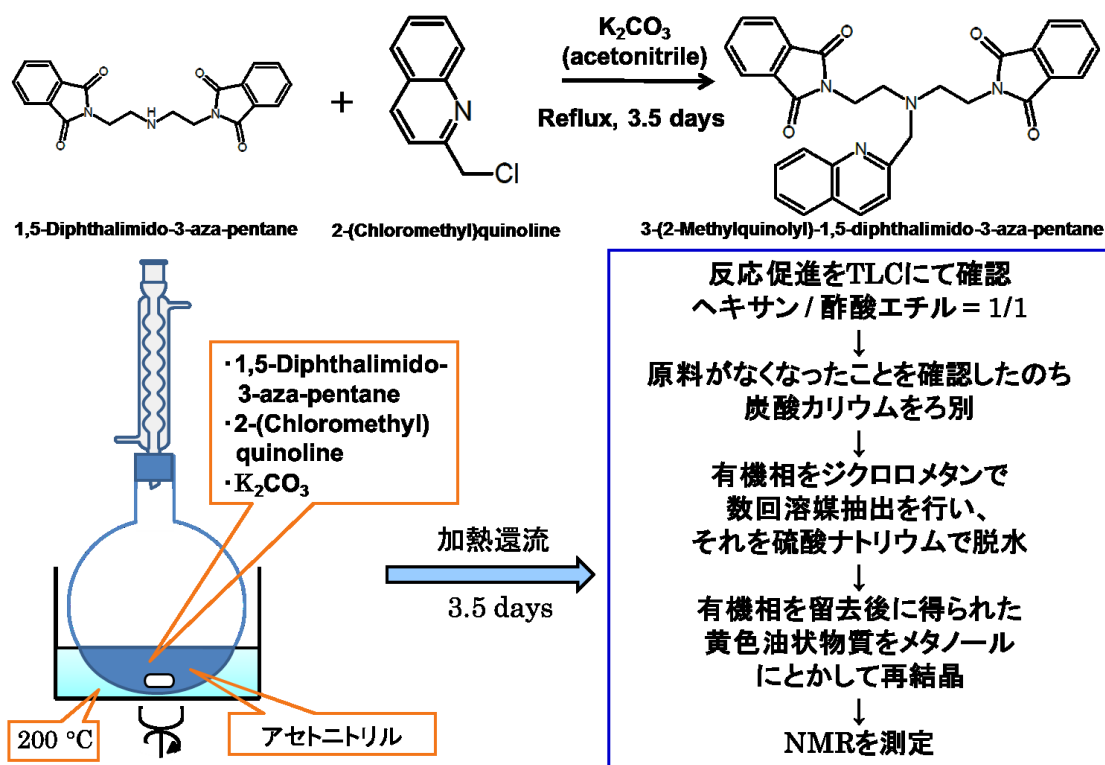


Fig. 3-6 Synthesis of 3-(2-Methylquinolyl)-1,5-dipthalimido-3-aza-pentane.

(3) 3-(2-Methylquinolyl)diethylenetriamine (QDETA)の合成

300 mL エタノールに(2)で得られた 3-(2-Methylquinolyl)-1,5-diphthalimido-3-aza-pentane (10 g: 0.02 mol) とその 10 倍当量の抱水ヒドラジン(10 g: 0.2 mol) を加え加熱還流を 3 時間行った。反応が進むと、白色の懸濁液が透明になったあと、再び、乳白色の懸濁液となった。反応促進は TLC で確認した。その後、室温まで冷却したのち、白色固体をろ別した。冷エタノールで残渣を洗い、ろ液を高真空ポンプで留去した。黄色の油状物質が得られた。同定は $^1\text{H-NMR}$ で行った。反応模式図を Fig. 3-7 に示す。

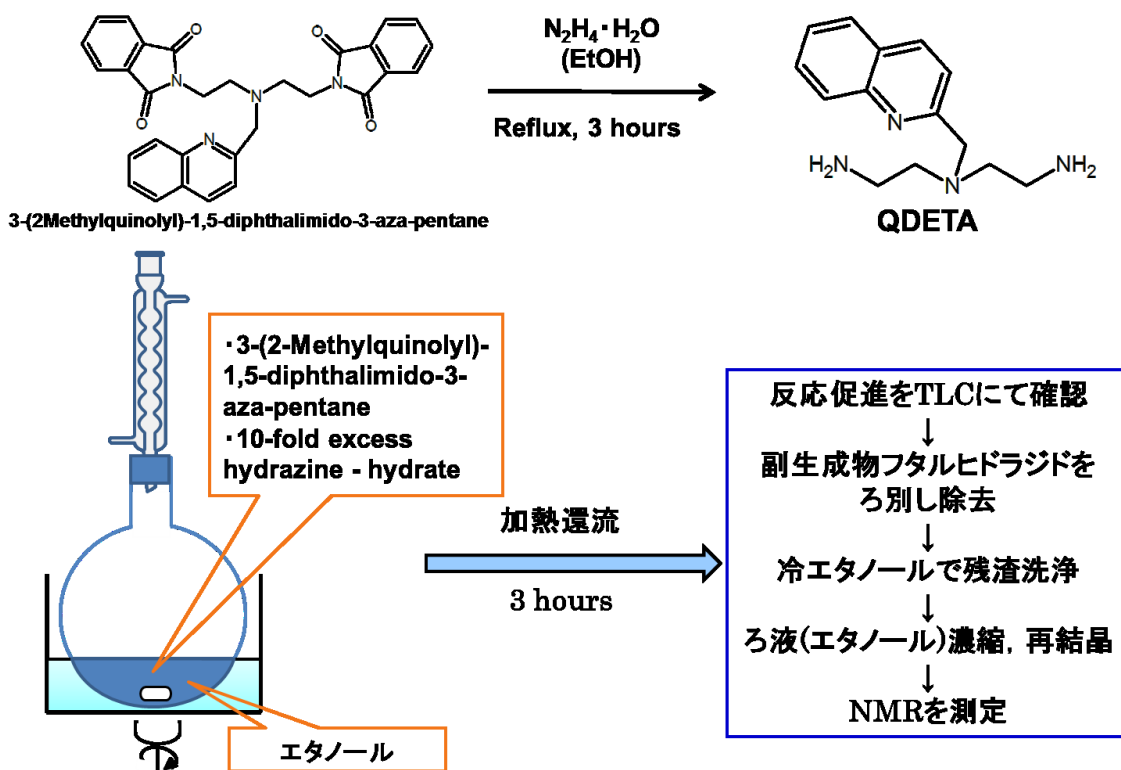


Fig. 3-7 Synthesis of 3-(2-Methylquinolyl)diethylenetriamine (QDETA).

3.3.2.2 Bis(2-methylpyridyl)(2-methylquinolyl)amine (BPQA)の合成

200 mL のエタノールに Bmpa (2.0 g: 0.01 mol)、Cmq 塩酸塩 (2.14 g: 0.01 mol) と無水炭酸カリウム (6.9 g: 0.05 mol) 加えた。懸濁させながら加熱還流を 5 日間行った。反応促進を TLC にて確認し、原料部分のスポットが無くなったことを確認したのち、炭酸カリウムをろ別し、エタノールを留去した。得られた油状物質をジクロロメタンで数回溶媒抽出を行い、有機相を硫酸ナトリウムで脱水した。硫酸ナトリウムをろ別したのち、有機相を再度留去した。黄色の油状物質が得られた。その油状物質を温めた多量のヘキサンに溶かし、再結晶した。淡黄色の固体が得られた。同定は $^1\text{H-NMR}$ で行った。反応模式図を Fig. 3-8 に示す。

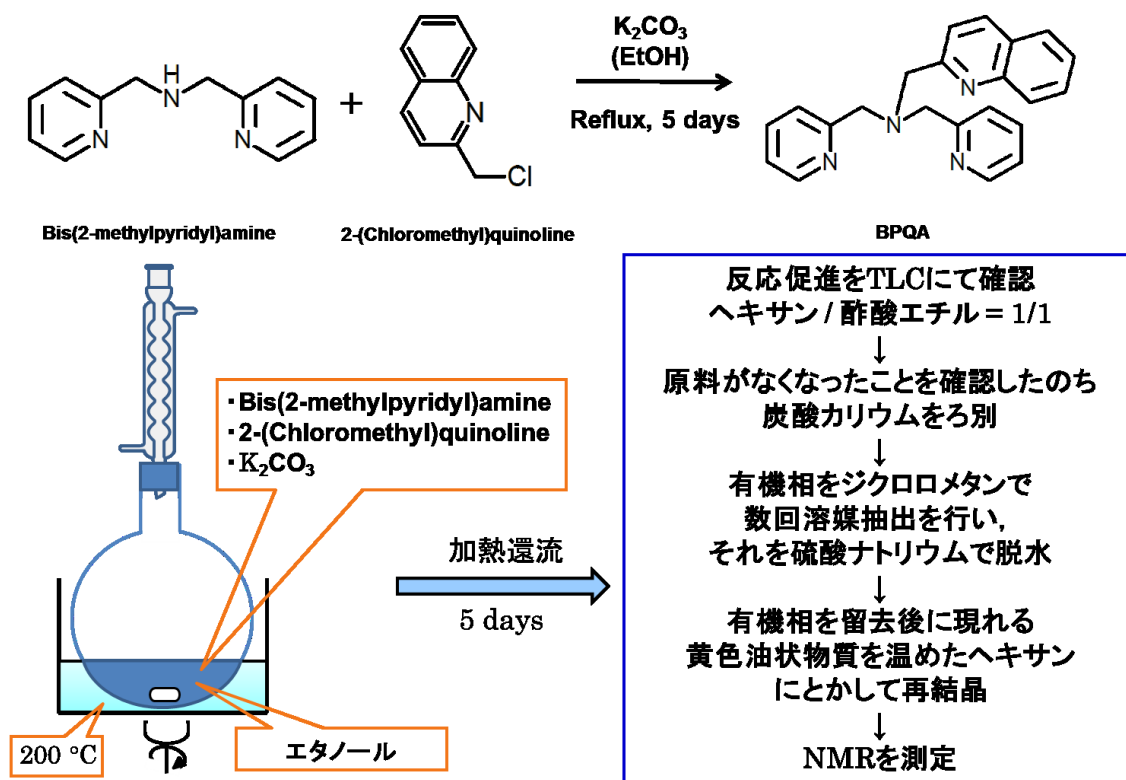


Fig. 3-8 Synthesis of Bis(2-methylpyridyl)(2-methylquinolyl)amine (BPQA).

3.3.3 銅(II)錯体の合成

3.3.3.1 [Cu(II)(qdet)](NO₃)₂ の合成

3.3.2.1 で得られた QDETA の油状物質 0.01 mol 相当 (2.4 g) を 50 %エタノール 200 mL に溶かし、エタノール 50 mL に溶かした硝酸銅 (2.4 g: 0.01 mol) 溶液を滴下した。その後、反応液を攪拌させながら、NaOH 溶液を滴下し、pH 7-8 付近に調整した。湯浴で 50 °C、60 分間反応させたのち、室温まで冷却させた。しばらく放置後、緑色の藻のような物質が現れたので、自然ろ過を二回行い、藻状物質を取り除いた。深青色の溶液が得られた。その溶液を 1 L の水で希釈し、陽イオン交換樹脂 (SP-Sephadex C-25) に通して吸着させた。蒸留水で洗浄したのち、樹脂の青いバンド部分を 0.2 M 硝酸ナトリウム水溶液で溶出させた。濃青色の溶出液がえられた。その溶出液は高真空ポンプを用いて常温で濃縮したのち、常温のまま一晩おいて再結晶させた (Fig. 3-9)。

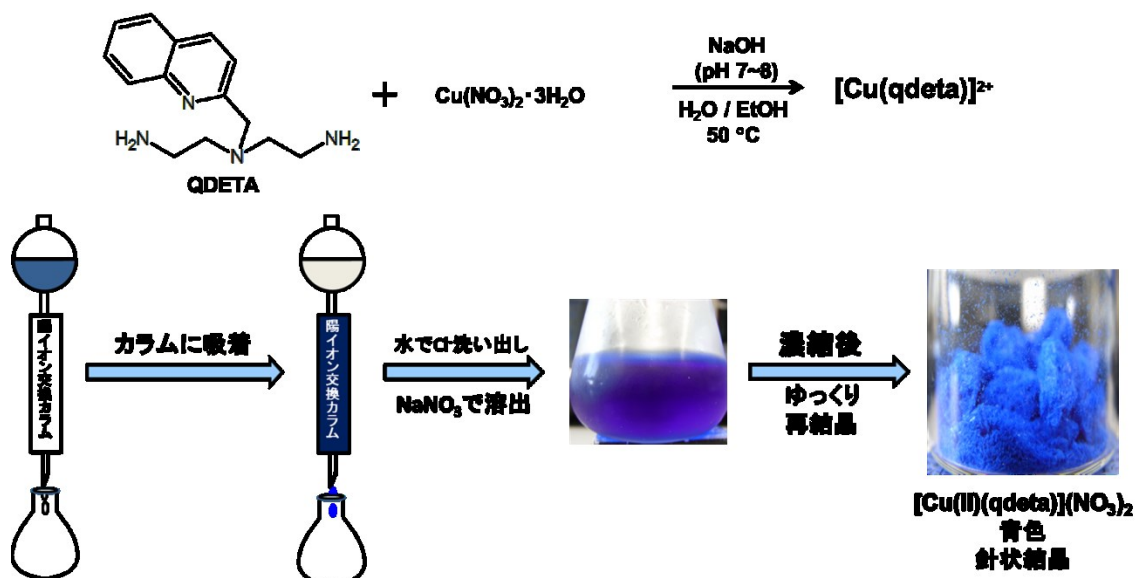


Fig. 3-9 Synthesis of [Cu(II)(qdet)](NO₃)₂.

3.3.3.2 [Cu(II)(bpqa)](NO₃)₂ の合成

エタノール 100 mL に BPQA (3.4 g: 0.01 mol) を溶かし、そこに 20 mL のエタノールに溶かした硝酸銅 (2.4 g: 0.01 mol) を滴下した。溶液は緑色となり、撹拌させながら 50 °C で 45 分間加温した。室温まで冷却し、しばらく放置した。現れた沈殿物をろ別し、乾燥させ水色粉末が得られた。その水色粉末を 1 L の水にとかした溶液を陽イオン交換樹脂 (SP-Sephadex C-25) に通して吸着させた。蒸留水で洗浄したのち、樹脂の緑色のバンド部分を 0.2 M 硝酸ナトリウム水溶液で溶出させた。淡青色の溶出液がえられ、高真空ポンプを用いて常温で濃縮したのち、常温で一晩おいて再結晶させた (Fig. 3-10)。

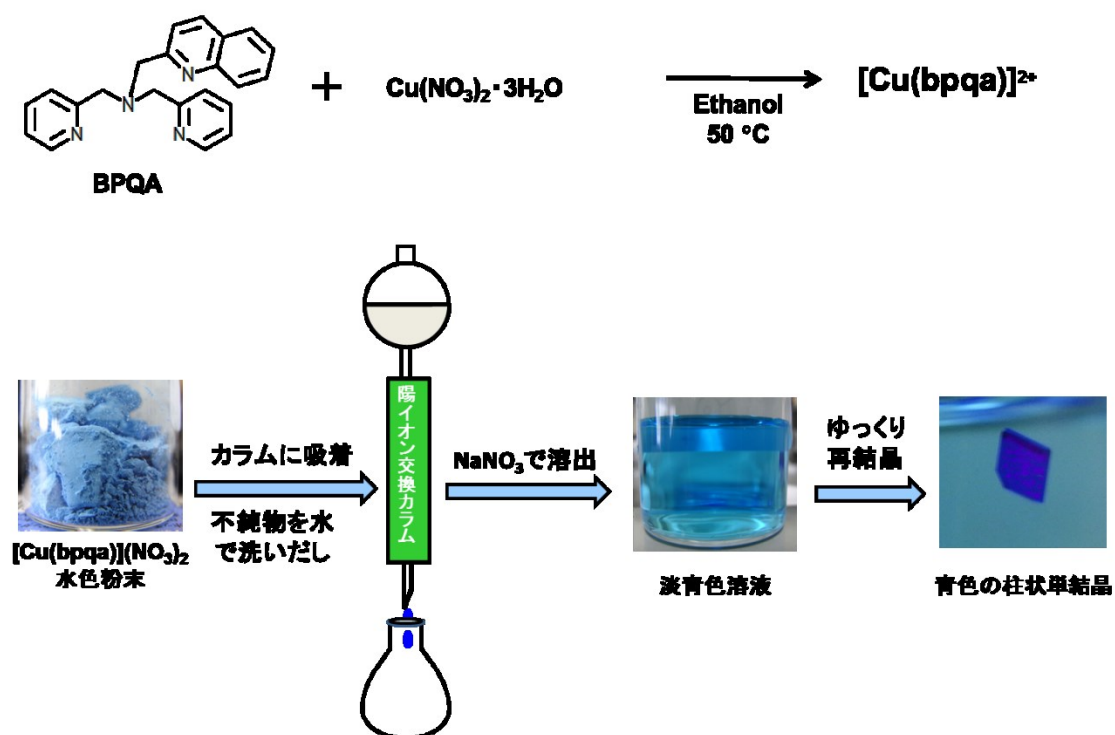


Fig. 3-10 Synthesis of [Cu(II)(bpqa)](NO₃)₂.

3.3.4 [Cu(II)(qdet_a)](NO₃)₂ および [Cu(II)(bpq_a)](NO₃)₂ の構造解析

新規に合成された配位子 **QDETA** を含む金属錯体の結晶構造は報告されていない。その結晶構造を明らかにするため、また元素分析で合成できているか決定できなかったため、X 線構造解析を試みた。

BPQA を含む銅錯体の結晶構造は報告[14]されているが、報告にあるのは銅(I)錯体であり、また [Cu(II)(qdet_a)](NO₃)₂ との比較のため X 線構造解析を試みた。

3.3.3.1 および 3.3.3.2 で得られた濃青色および青色粉末を水溶媒でゆっくり再結晶を行うことで X 線構造解析に適した単結晶を得た。これらの結晶の X 線回折データは、線源に **Mo** を使用し、多層膜ミラーを備えた **Rigaku Saturn724** を用いて 93 K で収集した。構造は直接法とフーリエ解析を用いて解析した。非水素原子は異方的に精密化し、水素原子はライディングモデルを用いて精密化した。それぞれの結晶データを **Table 7** に示す。

Table 7 Crystal data and structure refinement for $[\text{Cu}(\text{II})(\text{qdet}) (\text{NO}_3)]\text{NO}_3$ and $[\text{Cu}(\text{II})(\text{bpqa})(\text{NO}_3)]\text{NO}_3 \cdot 2.5\text{H}_2\text{O}$.

Complex	$[\text{Cu}(\text{II})(\text{qdet}) (\text{NO}_3)]\text{NO}_3$	$[\text{Cu}(\text{II})(\text{bpqa})(\text{NO}_3)]\text{NO}_3 \cdot 2.5\text{H}_2\text{O}$
Empirical formula	$\text{C}_{14}\text{H}_{20}\text{CuN}_6\text{O}_6$	$\text{C}_{22}\text{H}_{25}\text{CuN}_6\text{O}_{8.5}$
Formula weight	431.89	573.02
Color	blue	blue
Temperature (K)	93	93
Crystal System	monoclinic	monoclinic
Space Group	$\text{P2}_1/\text{c}$ (#14)	$\text{P2}/\text{c}$ (#13)
Crystal size (mm)	$0.200 \times 0.100 \times 0.050$	$0.300 \times 0.150 \times 0.150$
Unit cell dimensions		
a (Å)	9.267(4)	14.983(2)
b (Å)	13.074(5)	11.4526(16)
c (Å)	13.848(6)	14.130(2)
β (°)	90.315(5)	93.82(2)
V (Å ³)	1677.9(12)	2419.3(6)
Z	4	4
$D_{\text{calc.}}$ (g/cm ³)	1.710	1.573
Radiation (Å)	0.71075	0.71075
$\mu(\text{Mo } K_{\alpha})$ (cm ⁻¹)	13.508	9.660
$F(0\ 0\ 0)$	892.00	1184.00
No. of reflections collected	22432	21958
No. of independent reflections	5198	7378
R_{int}	0.0299	0.0244
$2\theta_{\text{max}}$ (°)	63.2	63.5
Goodness-of-fit on F^2	1.269	1.112
R indices [$I > 2\sigma(I)$]	$R_1 = 0.0832$	$R_1 = 0.0550$
R indices (all data)	$R_1 = 0.0886$ $wR_2 = 0.1869$	$R_1 = 0.0685$ $wR_2 = 0.1714$

3.3.5 [Cu(I/II)(qdet_a)]⁺²⁺および[Cu(I/II)(bpq_a)]⁺²⁺の吸光スペクトル

測定には吸光スペクトルメーター UV-1600 (Shimadzu, 京都) を使用した。ホウ酸系緩衝液 (pH 8) を溶媒に用いた。銅(I)錯体溶液は、銅(II)錯体溶液に過剰の硫酸ヒドラジニウムを添加し、70 °C の湯浴で加温して調製した。

3.3.6 QDETA および BPQA の蛍光スペクトル

測定には蛍光スペクトルメーター RF-5300PC (Shimadzu, 京都) を使用した。ホウ酸系緩衝液 (pH 8) を溶媒に用いた。QDETA の蛍光スペクトルの測定は、以下のように行った。pH 8 のホウ酸系緩衝液で最終的な濃度が Cu(II)錯体 10 μM、EDTA 100 μM となるように 100 mL メスフラスコで調整したものを良く振り混ぜたあと、1 日静置したのち、蛍光スペクトルを測定した。その後、濃硝酸で pH を調製し pH ごとの蛍光スペクトルも測定した。

BPQA の蛍光スペクトルは、ホウ酸系緩衝液で pH 8 に調整した 50%エタノールに BPQA を 10 μM となるように溶かした溶液を用いて測定した。

3.3.7 [Cu(I/II)(qdet_a)]⁺²⁺および[Cu(I/II)(bpq_a)]⁺²⁺の蛍光スペクトル

測定には 3.3.6 と同様のスペクトルメーターを用いた。銅(I)錯体溶液は、銅(II)錯体溶液に過剰の硫酸ヒドラジニウムを添加し、70°C の湯浴で加温して調製した。

[Cu(I/II)(qdet_a)]⁺²⁺の励起波長は 350 nm を[Cu(I/II)(bpq_a)]⁺²⁺の励起波長は 317 nm を採用した。

3.3.8 [Cu(II)(qdet_a)]²⁺の pH 依存性

[Cu(II)(qdet_a)]²⁺を試薬として用いるため、QDETA の極大蛍光波長 400 nm (Ex; 313 nm) と[Cu(II)(qdet_a)]²⁺の吸光波長 655 nm を用いて、蛍光強度、吸光度を測定し、pH ごとの安定性を調べた。

3.3.8.1 蛍光強度からみた水素イオンによる銅(II)錯体の分解

銅(II)錯体が 10 μM となるようにそれぞれの緩衝液 (pH 4, 5, 5.5: 酢酸系緩衝液 pH 9, 10: ホウ酸系緩衝液) に溶かした。それぞれの溶液の蛍光強度の経時変化を 60 分間測定した。(Ex; 313 nm, Em; 400 nm)

3.3.8.2 吸光度からみた水素イオンによる銅(II)錯体の分解

硫酸で pH を調整した各溶液に 4.8 mM となるように銅(II)錯体を添加した。良く振り混ぜたあと、655 nm の吸光度を混合直後、1 時間後、24 時間後で測定した。

3.3.9 [Cu(II)(qdet_a)]²⁺を用いたバッチ法による還元剤の検出

3.3.9.1 種々の還元剤検出

pH 8 の 10 mM ホウ酸系緩衝液に 50 μM となるように [Cu(II)(qdet_a)](NO₃)₂ を溶かした。その溶液に種々の還元剤(アスコルビン酸、硫酸ヒドラジニウム、塩化ヒドロキシルアンモニウム、亜ジチオン酸ナトリウム)をそれぞれ 50 μM となるように添加し、よく振り混ぜた。混合液を湯浴 (70 °C) で 10 分間加温した後、3 分間水浴 (4 °C) で冷やし、蛍光スペクトルを測定した。

3.3.9.2 アスコルビン酸の検出

3.3.9.1 と同様の反応条件で行った。5-200 μM のアスコルビン酸を添加し、蛍光スペクトルを測定した。

3.3.9.3 実試料の検出

3.3.9.1 と同様の反応条件で行った。ビタミン C 含有表記のある市販のジュースをメンブレンフィルターで 1 回ろ過したのち、25, 50, 100 μM となるよう調製して [Cu(II)(qdet_a)](NO₃)₂ 溶液に添加した。反応後、それぞれの蛍光スペクトルを測定した。

3.4 結果と考察

3.4.1 蛍光性配位子の合成

3.4.1.1 QDETA の合成

QDETA を、これまでの方法で、ワンポットで合成しようとするとうちの第 1 級アミン部位にもキノリル基が修飾されてしまい副生成物が複数生成する。それを防ぐため、無水フタル酸を用いて、一旦、第 1 級アミン部位を保護し、第 2 級アミン部位に Cm_q を修飾した。その後、フタルイミドを脱保護し、目的物を得た。

(1) 1,5-Diphthalimido-3-aza-pentane の合成

¹H-NMR を Fig.3-11 に示す。シミュレーションと比較すると良好な結果が得られ、合成できたとみなした。

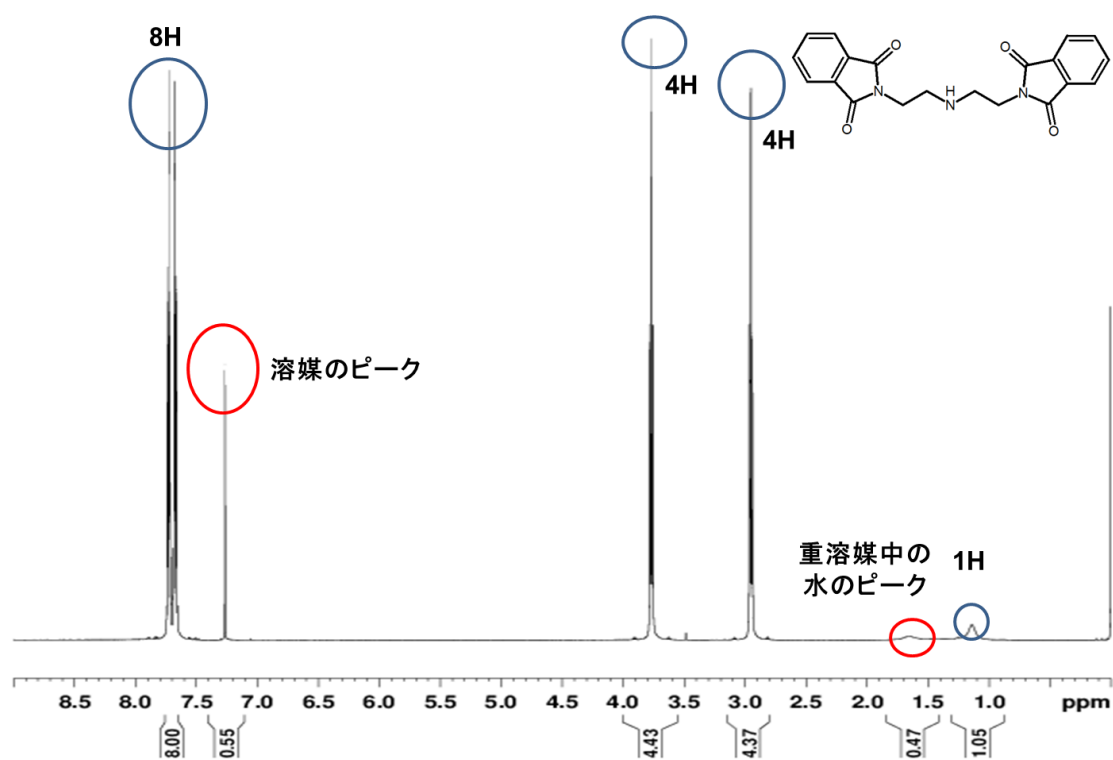


Fig.3-11 ¹H-NMR of 1,5-Diphthalimido-3-aza-pentane.

(2) 3-(2-Methylquinolyl)-1,5-diphthalimido-3-aza-pentane の合成

^1H -NMR を Fig.3-12 に示す。こちらも良好な結果が得られ、合成できたとみなした。

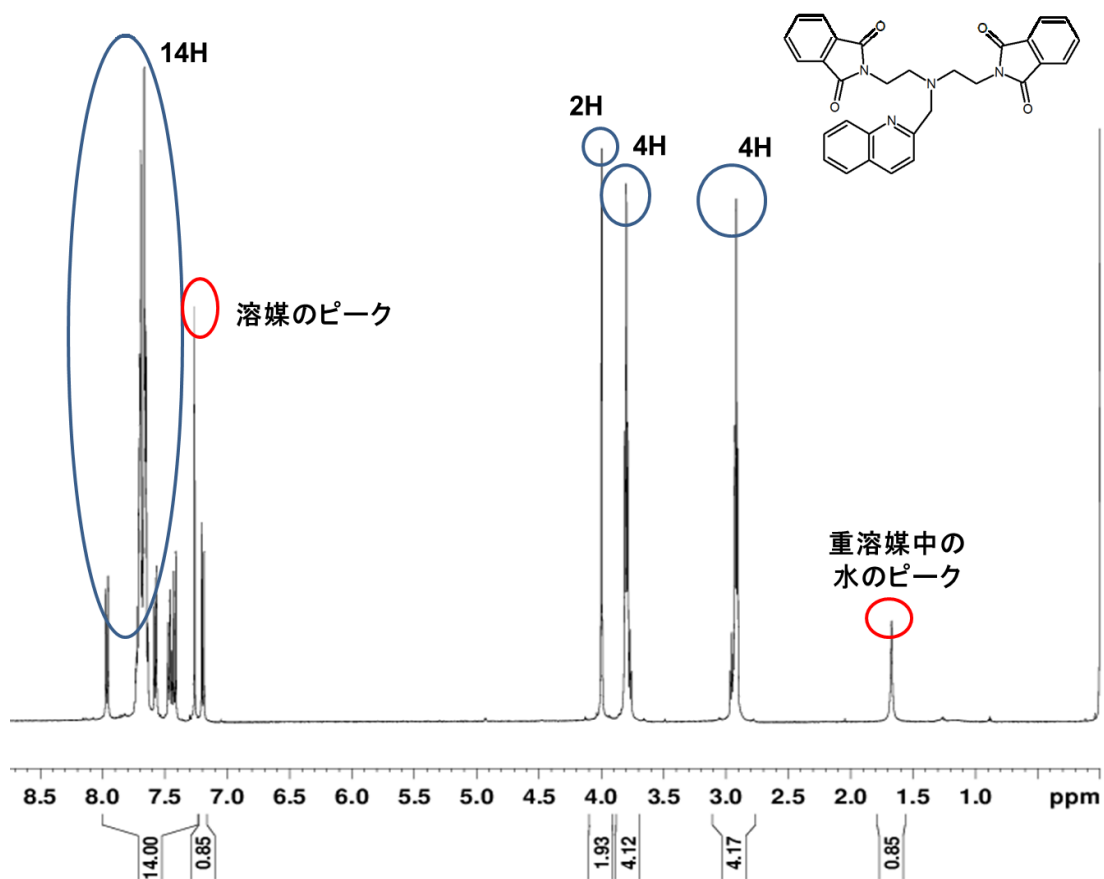


Fig.3-12 ^1H -NMR of 3-(2-Methylquinolyl)-1,5-diphthalimido-3-aza-pentane.

(3) 3-(2-Methylquinolyl)diethylenetriamine (QDETA)の合成

抱水ヒドラジンは第 1 級アミンの保護基であるフタロイル基を脱保護するために加えた。反応が進んで現われた白色固体は副生成物のフタルヒドラジドと考えられる。高真空ポンプを用いて脱保護に用いたヒドラジンを留去した。QDETA は固体として得られなかったため、油状物質の ^1H -NMR を測定した。(Fig. 3-13)

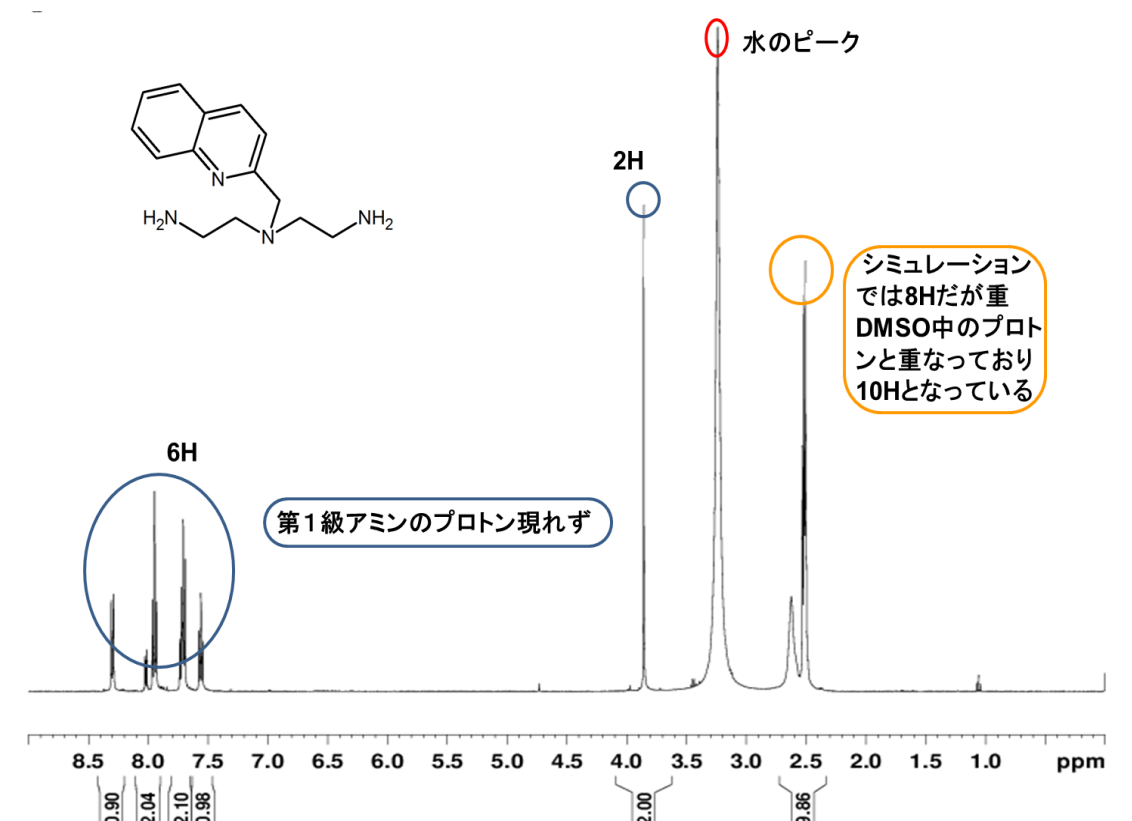


Fig.3-13 ^1H -NMR of QDETA.

Fig. 3-13 より、第 1 級アミンのプロトンが現れなかったのは付近に多数の水分子が存在したためと考えられる。また、重ジメチルスルホキシド (DMSO) 中のプロトンの位置と重なったため、正確なプロトン数がわからなかった。しかしケミカルシフト 7.5~8.5 ppm 付近に表れる特徴的なキノリル基のプロトンのピーク形がみられたため、合成できているとみなした。

3.4.1.2 BPQA の合成

BPQA は既に合成されているが、報告[14]とは異なる方法で合成した。当初、溶媒はアセトニトリルを用いたが、固体として単離できなかった。その後、溶媒をエタノールにかえ、還流時間をアセトニトリル時よりも長めにとり反応させた。得られた油状物質をヘキサンで再結晶することで淡黄色固体を得た。その ^1H -NMR を Fig. 3-14 に示す。シミュレーションと一致を示したため、合成できたとみなした。

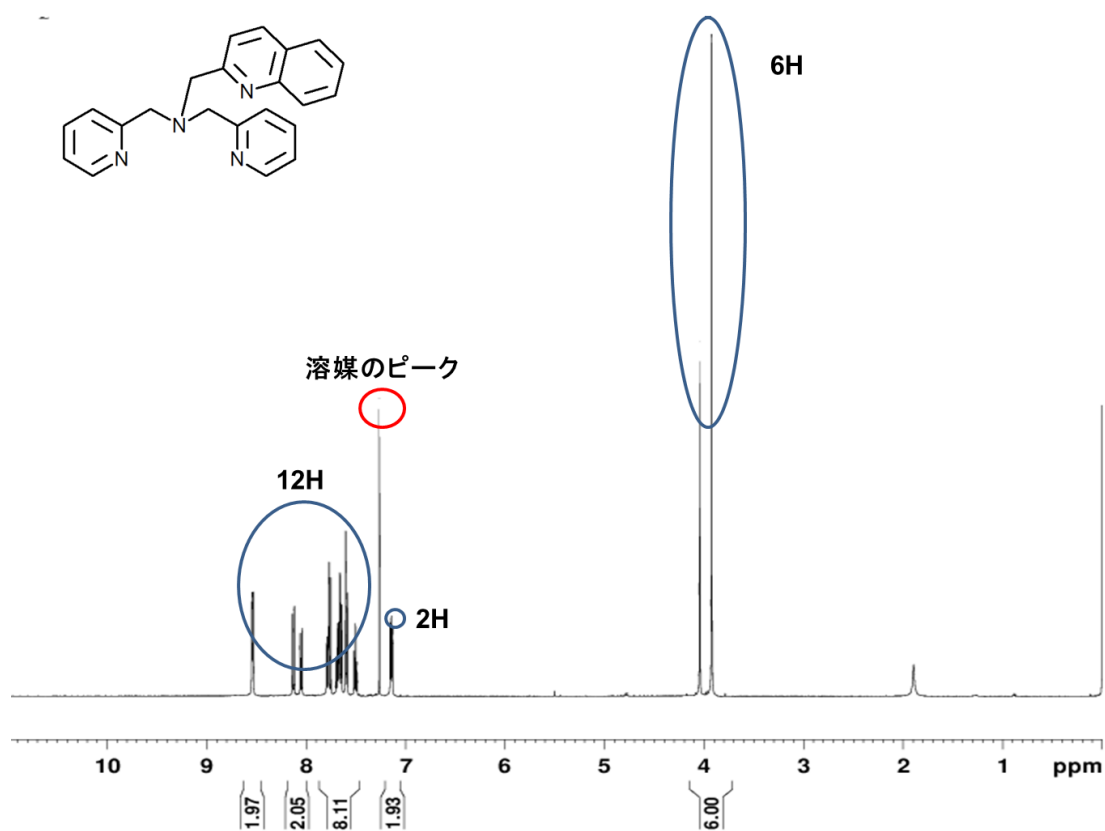


Fig.3-14 ^1H -NMR of BPQA.

3.4.2 銅(II)錯体の合成

3.4.2.1 [Cu(II)(qdeta)](NO₃)₂ の合成

硝酸銅(II)溶液を加えたのち、pH 7–8 付近に調整したのは銅に配位子を配位させやすくするためである。反応が進みあらわれた緑色の藻のような物質は脱保護の際生じたフタルヒドラジドと銅の化合物か、もしくは留供されずに残ったヒドラジンと銅の化合物と思われる。吸引ろ過ではなく自然ろ過をおこなったのは、吸引ろ過ではその藻状物質が通過してしまい、ろ別することができなかったため、自然ろ過で懸濁液をゆっくりろ紙に通した。一回で除去しきれなかったため二回行い、藻状物質を取り除いた。得られた深青色の溶液を多量の水で希釈したのは、合成の際 pH 調製で加えた水酸化ナトリウム由来のナトリウムイオンの影響を避けるためである。陽イオン交換樹脂に吸着させたのち蒸留水で Cl⁻を洗い出したのは、Cl⁻自身が配位能をもつので、銅錯体生成の妨害を防ぐためである。濃青色の溶出液を、高真空ポンプを用いて常温で濃縮したのは、高温で濃縮すると硝酸ナトリウムの溶解度が増すことにより、再結晶したときに硝酸ナトリウムの結晶が析出するのを防ぐためである。

3.4.2.2 [Cu(II)(bpqa)](NO₃)₂ の合成

BPQA は水にほとんど溶けないため、100%エタノール中で反応を行った。この錯体はエタノール中で析出したため、吸引ろ過で固体をろ別し、水色の粉末を得ることができた。その後、水に溶かし、陽イオン交換樹脂に吸着させて水で洗浄した後、硝酸ナトリウム水溶液で溶出させた液を再結晶することで青い柱状の結晶を得ることができた。銅錯体になると水溶性となったが、[Cu(II)(qdeta)](NO₃)₂ に比べて溶解度は低かった。しかしながら、分析試薬として使用する場合の濃度としては問題ないと思われる。固体として単離できたが、本論文では新規の化合物である QDETA と [Cu(I/II)(qdeta)]⁺²⁺ を中心に検討したため、分析試薬としての検討は行っていない。

3.4.3 [Cu(II)(qdeta)](NO₃)₂ および[Cu(II)(bpqa)](NO₃)₂ の構造解析

3.4.3.1 [Cu(II)(qdeta)(NO₃)]NO₃ の構造解析

[Cu(II)(qdeta)(NO₃)]⁺ の ORTEP 図を Fig. 3-15 に、主な原子間距離並びに結合角を Table 8 に、主な原子の座標と占有率を Table 9 に示す。

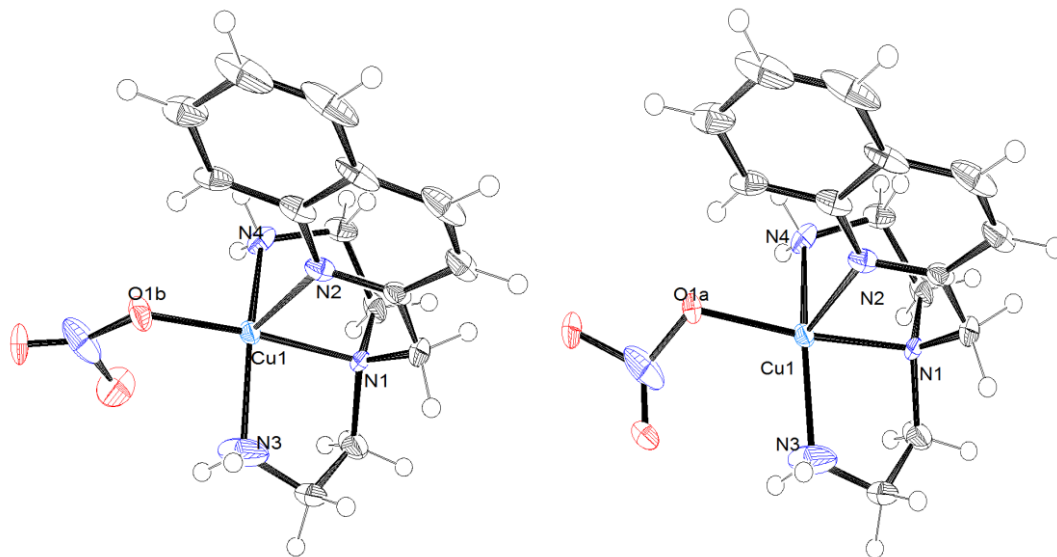


Fig. 3-15 ORTEP view of [Cu(II)(qdeta)(NO₃)]⁺. Thermal ellipsoids are shown at the 50% probability level.

Table 8 Selected bond distances (Å) and angles (°) for [Cu(II)(qdeta)(NO₃)]NO₃

Atom	Atom	Distance(Å)	Atom	Atom	Distance(Å)		
Cu1	N1	2.0062(4)	Cu1	N4	2.011(4)		
Cu1	N2	2.266(4)	Cu1	O1a	2.032(8)		
Cu1	N3	1.997(7)	Cu1	O1b	1.992(8)		
Atom	Atom	Atom	Angle(°)	Atom	Atom	Atom	Angle(°)
N1	Cu1	N2	80.48(14)	O1a	Cu1	N2	107.9(2)
N1	Cu1	N3	83.2(2)	O1a	Cu1	N3	105.8(3)
N1	Cu1	N4	85.38(16)	O1a	Cu1	N4	81.1(2)
N2	Cu1	N3	108.3(2)	O1b	Cu1	N1	173.8(3)
N2	Cu1	N4	93.13(15)	O1b	Cu1	N2	98.2(2)
N3	Cu1	N4	153.5(2)	O1b	Cu1	N3	91.6(3)
O1a	Cu1	N1	164.4(2)	O1b	Cu1	N4	100.7(3)

Table 9 Selected atomic coordinates, B_{iso}/B_{eq} , and occupancy for $[Cu(II)(qdet)(NO_3)]NO_3$

Atom	x	y	z	B_{eq}	occ
Cu1	0.82730(6)	0.03447(4)	0.79997(4)	1.291(14)	1
O1a	0.9765(8)	0.1471(6)	0.7851(6)	1.68(11)	1/2
O1b	1.0114(9)	0.1017(7)	0.7621(6)	2.08(12)	1/2
N1	0.6479(4)	-0.0499(3)	0.8369(3)	1.39(6)	1
N2	0.7486(4)	-0.0096(3)	0.6504(3)	1.46(6)	1
N3	0.9332(6)	-0.0846(5)	0.8564(5)	4.57(16)	1
N4	0.6953(5)	0.1563(3)	0.8073(3)	1.78(6)	1

$$B_{eq} = 8/3 \pi^2 (U_{11}(aa^*)^2 + U_{22}(bb^*)^2 + U_{33}(cc^*)^2 + 2U_{12}(aa^*bb^*)\cos \gamma + 2U_{13}(aa^*cc^*)\cos \beta + 2U_{23}(bb^*cc^*)\cos \alpha)$$

$[Cu(II)(qdet)(NO_3)]^+$ において、中心金属イオンである銅には QDETA の四つの窒素原子と硝酸イオンの酸素原子が一つ配位している。それらは QDETA の第 3 級アミンの窒素 N1、キノリル基の窒素 N2、第 1 級アミンの窒素 N3 と N4、そして硝酸イオンの酸素 O1a もしくは O1b である。配位している硝酸イオンの酸素原子はその占有率から O1a の位置にある場合と O1b の位置にある場合の 2 つが考えられる。Fig. 3-15 では配位原子である酸素が O1b に位置する場合を左に O1a に位置する場合を右に表示している。得られた原子座標から平面 N3N1N4 と O1b (O1a)の距離を求めたところ約 0.068 Å と短い。ため N1, N3, N4, O1b (O1a)はほぼ同一平面にあると考えられる。Cu1-N2 の結合距離 (2.266Å)は Cu1-N1, Cu1-N3, Cu1-N4, Cu1-O1b (O1a)の結合距離(1.992-2.045Å)より長い。ため、底面の頂点位置の原子に比べ、弱く結合していると考えられる。N2 は N1, N3, N4, O1b(O1a)を底面とする四角錐の頂点位置にあると考えられるが、結合角を比較するとそれぞれ $\angle N2Cu1O1b = 98.2^\circ$ ($\angle N2Cu1O1a = 107.9^\circ$), $\angle N2Cu1N1 = 80.48^\circ$, $\angle N2Cu1N3 = 108.3^\circ$, $\angle N2Cu1N4 = 93.13^\circ$ であり理想的な結合角が 90° であることを考慮すると、N2 の位置が理想位置から外れていることがわかる。また平面 O1bCu1N3 (O1aCu1N3)と平面 N1Cu1N4 の 2 面角は約 158.5° であることから Cu1 は N1N3N4O1b (N1N3N4O1a)と同一平面になく、少し浮いた位置にあることがわかる。以上から、 $[Cu(II)(qdet)(NO_3)]^+$ の幾何構造は Cu1 を中心に N1N3O1bN4 (N1N3O1aN4)を底面とし N2 を頂点位置とした歪んだ四角錐構造と決定した。

3.4.3.2 [Cu(II)(bpqa)(NO₃)]NO₃·2.5H₂O の構造解析

[Cu(II)(bpqa)(NO₃)]⁺ の ORTEP 図を Fig. 3-16 に、主な原子間距離並びに結合角を Table 10 に、主な原子の座標と占有率を Table 11 に示す。

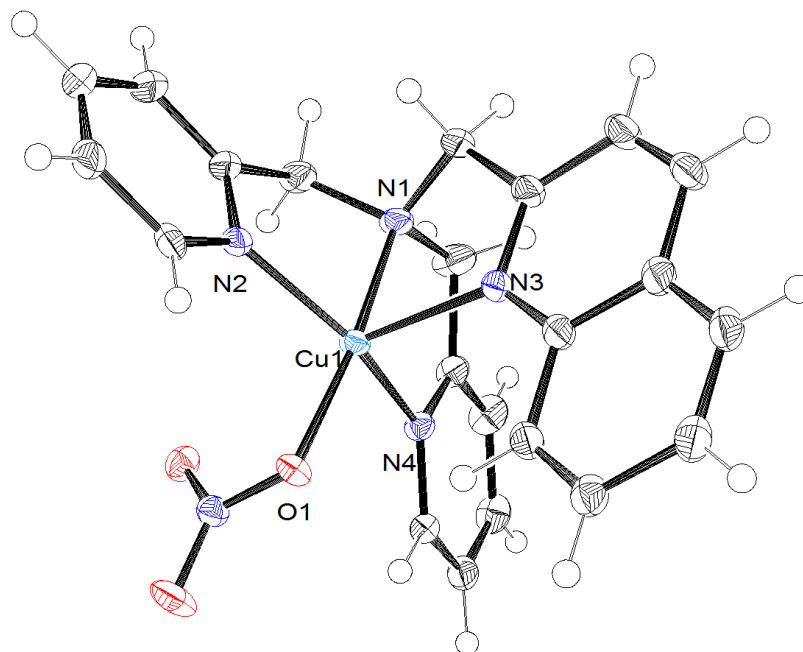


Fig. 3-16 ORTEP view of [Cu(II)(bpqa)(NO₃)]⁺. Thermal ellipsoids are shown at the 50% probability level.

Table 10 Selected bond distances (Å) and angles (°) for [Cu(II)(bpqa)(NO₃)]NO₃

Atom	Atom	Distance(Å)	Atom	Atom	Distance(Å)		
Cu1	N1	2.029(2)	Cu1	N4	1.9930(19)		
Cu1	N2	1.9969(19)	Cu1	O1	1.9813(17)		
Cu1	N3	2.212(2)					
Atom	Atom	Atom	Angle(°)	Atom	Atom	Atom	Angle(°)
N1	Cu1	N2	82.09(8)	N3	Cu1	N4	103.01(7)
N1	Cu1	N3	81.72(8)	O1	Cu1	N1	172.53(8)
N1	Cu1	N4	84.56(8)	O1	Cu1	N2	94.86(7)
N2	Cu1	N3	103.30(7)	O1	Cu1	N3	105.65(7)
N2	Cu1	N4	148.31(8)	O1	Cu1	N4	94.74(8)

Table 11 Selected atomic coordinates, $B_{\text{iso}}/B_{\text{eq}}$, and occupancy for $[\text{Cu(II)(bpqa)(NO}_3)]\text{NO}_3$

Atom	x	y	z	B_{eq}	occ
Cu1	0.18778(2)	0.72414(2)	0.36090(2)	1.191(9)	1
O1	0.07236(11)	0.63925(14)	0.35666(12)	1.39(2)	1
N1	0.31347(14)	0.79049(19)	0.36283(14)	1.63(3)	1
N2	0.21189(13)	0.68902(16)	0.22653(13)	1.28(3)	1
N3	0.15260(14)	0.91176(17)	0.35707(13)	1.49(3)	1
N4	0.21716(13)	0.69469(17)	0.49845(13)	1.26(3)	1

$$B_{\text{eq}} = 8/3 \pi^2 (U_{11}(\text{aa}^*)^2 + U_{22}(\text{bb}^*)^2 + U_{33}(\text{cc}^*)^2 + 2U_{12}(\text{aa}^*\text{bb}^*)\cos \gamma + 2U_{13}(\text{aa}^*\text{cc}^*)\cos \beta + 2U_{23}(\text{bb}^*\text{cc}^*)\cos \alpha)$$

$[\text{Cu(II)(bpqa)(NO}_3)]^+$ において、中心金属イオンである銅には BPQA の四つの窒素原子と硝酸イオンの酸素原子が一つ配位している。それらは BPQA の第3級アミンの窒素 N1、キノリル基の窒素 N3、ピリジル基の窒素 N2 と N4、そして硝酸イオンの O1 である。得られた原子座標から平面 N2N1N4 と O1 の距離を求めれば約 0.063Å と短いため N1, N2, N4, O1 はほぼ同一平面にあると考えられる。Cu1-N3 の結合距離(2.212Å)は Cu1-N1, Cu1-N2, Cu1-N4, Cu1-O1 の結合距離(1.9813-2.029Å)より長いため、底面の頂点位置の原子に比べ、弱く結合していると考えられる。N3 は N1, N2, O1, N4 を底面とする四角錐の頂点位置にあると考えられるが、結合角を比較するとそれぞれ $\angle\text{N3Cu1O1} = 105.65^\circ$, $\angle\text{N3Cu1N1} = 81.72^\circ$, $\angle\text{N2Cu1N2} = 103.30^\circ$, $\angle\text{N3Cu1N4} = 105.65^\circ$ であり、理想的な結合角が 90° であることを考慮すると、N2 の位置が理想位置から外れていることがわかる。また平面 N1Cu1N4 と平面 O1Cu1N2 の2面角は約 145.4° であることから Cu1 は N1N2N4O1Cu1 と同一平面になく、少し浮いた位置にあることがわかる。以上から、 $[\text{Cu(II)(bpqa)(NO}_3)]^+$ 幾何構造は Cu1 を中心に N1N1O1N4 を底面とし N3 を頂点位置とした歪んだ四角錐構造と決定した。

両錯体とも 4 配位の平面四角形構造ではなく、5 配位の四角錐構造であった。作業仮説を証明するためには、今後 Cu(I)錯体を固体として単離し、その構造解析を行い、Cu(II)錯体との違いを調べる必要がある。

3.4.4 $[\text{Cu(I/II)}(\text{qdeta})]^{+/2+}$ および $[\text{Cu(I/II)}(\text{bpqa})]^{+/2+}$ の吸光スペクトル

測定結果を Fig. 3-17 に示す。

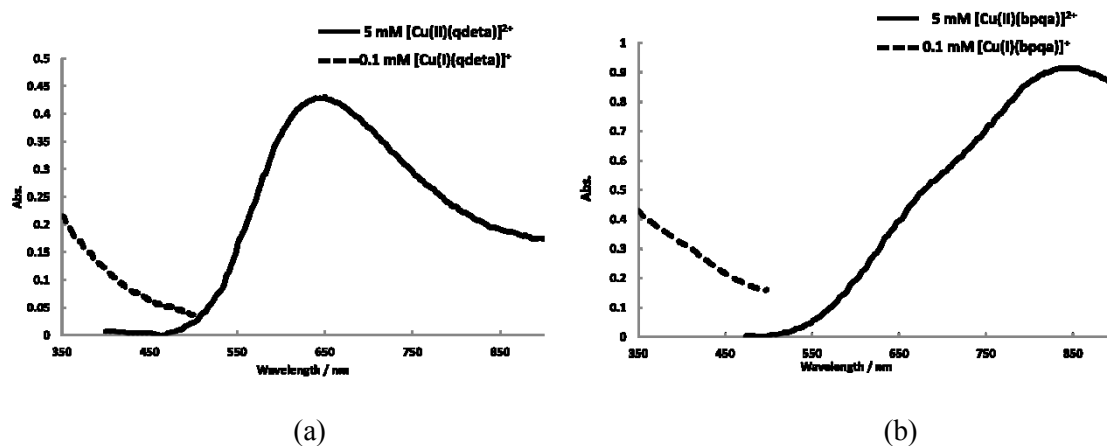


Fig. 3-17 Absorption spectra of the (a) $[\text{Cu(I/II)}(\text{qdeta})]^{+/2+}$ and (b) $[\text{Cu(I/II)}(\text{bpqa})]^{+/2+}$.

$[\text{Cu(II)}(\text{qdeta})]^{2+}$ および $[\text{Cu(II)}(\text{bpqa})]^{2+}$ の可視部の極大吸収はそれぞれ 650 nm と 848 nm に現れた。また、それぞれのモル吸光係数は 90 と $180 \text{ cm}^{-1} \text{ M}^{-1}$ となった。それらの吸収はモル吸光係数が小さいことから d-d 遷移によるものと考えられる。

それぞれの I 価錯体の吸光スペクトルにおいて、両錯体とも可視部では極大およびシヨルダーは現れなかった。また、波長が可視部から紫外部に移るにつれて、その吸光度は増加する傾向がみられた。

3.4.5 QDETA および BPQA の蛍光スペクトル

3.3.2.1 で QDETA は固体として単離できなかったため、フリーの QDETA の蛍光スペクトルが測定できなかった。当初、固体として単離するために様々な方法を検討したが、良好な結果が得られなかったため、配位子置換反応を利用する方法を考えた。まず EDTA と $[\text{Cu(II)(edta)}]^{2-}$ に蛍光が無いことを確認した。その後、銅(II)錯体溶液に EDTA を加えて、 $[\text{Cu(II)(qdet)}]^{2+}$ から銅(II)イオンを EDTA が奪うことでフリーの QDETA が遊離し、蛍光スペクトルが測定できると考えた。測定結果を Fig. 3-18(a) に示す。

BPQA は固体として単離したが、水溶媒にほとんど溶けないため 50% エタノールに溶かして、蛍光スペクトルを測定した。比較のため pH は 8 に調整した。測定結果を Fig. 3-18(b) に示す。

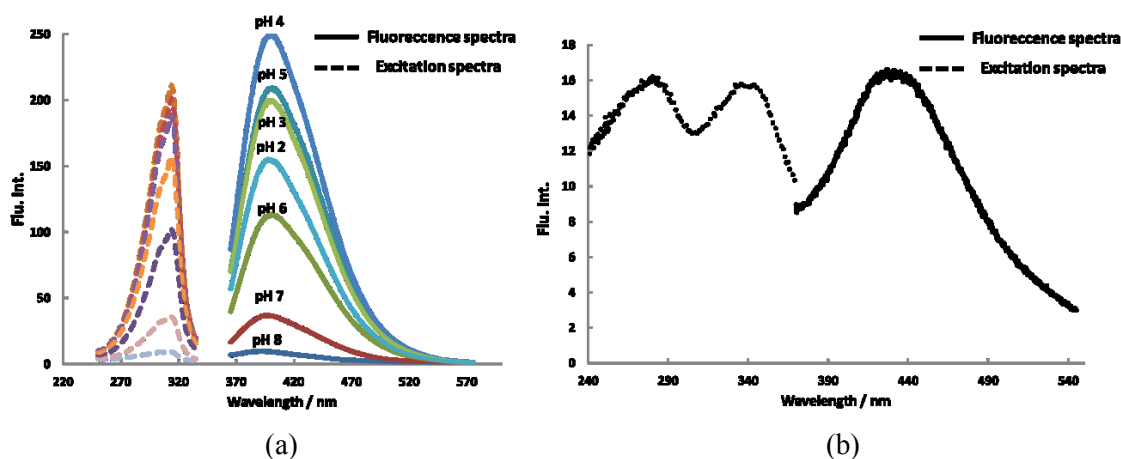


Fig. 3-18 Fluorescence and Excitation spectra of (a) QDETA and (b) BPQA.

pH 8 における QDETA の極大励起波長は 313 nm で極大蛍光波長は 389 nm となった。pH 2-7 における極大励起波長は変わらなかったが極大蛍光波長が長波長側に移動し 400 nm となった。蛍光強度も変化し pH 4 のとき最大となった。この結果は QDETA の蛍光強度が結合する水素イオンの数に依存することを示している

pH 8 における BPQA の極大励起波長は 280 nm と 346 nm にみられた。本実験での励起波長は 280 nm を採用した。極大蛍光波長は 436 nm であった。

3.4.6 $[\text{Cu(I/II)}(\text{qdet})]^{+2+}$ および $[\text{Cu(I/II)}(\text{bpqa})]^{+2+}$ の蛍光スペクトル

Fig. 3-19 に(a) $[\text{Cu(I/II)}(\text{qdet})]^{+2+}$ および(b) $[\text{Cu(I/II)}(\text{bpqa})]^{+2+}$ の励起・蛍光スペクトルを示す。また比較しやすくするため 3.4.5 で測定されたフリーの蛍光性配位子のスペクトル(pH 8)も併せて示した。

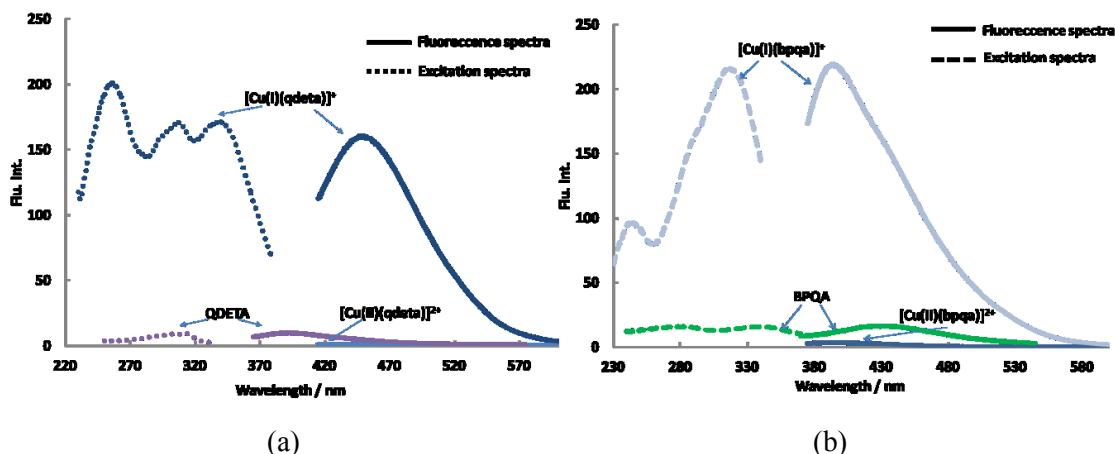


Fig. 3-19 Excitation and fluorescence spectra of Cu(I/II) complexes; (a) $[\text{Cu(I/II)}(\text{qdet})]^{+2+}$ and (b) $[\text{Cu(I/II)}(\text{bpqa})]^{+2+}$.

$[\text{Cu(I)}(\text{qdet})]^+$ の極大励起波長は 256 nm, 308 nm, 340 nm と観測された。蛍光波長を測定するさい、当初は最適な励起波長が判明していなかったため、350 nm を励起波長として採用した。極大蛍光波長は 450 nm であった。

$[\text{Cu(I)}(\text{bpqa})]^+$ の極大励起波長は 245 nm と 317 nm に現われた。励起波長として 317 nm を採用した。極大蛍光波長は 393 nm であった。

両錯体とも、その銅(II)錯体の蛍光強度はほぼベースラインに一致し、消光しているのがわかる。また、pH 8 において両錯体とも銅(I)錯体の蛍光強度はフリーの配位子の強度に比べ増強した。よってこれらの錯体を用いれば、2 章の錯体と同様に還元剤の検出に応用できる。 $[\text{Cu(I)}(\text{qdet})]^+$ の極大蛍光波長がフリーの配位子と比べ、長波長側にシフトしたのに対し、 $[\text{Cu(I)}(\text{bpqa})]^+$ の極大蛍光波長は短波長側にシフトした。両錯体とも、フリーの配位子の極大励起および極大蛍光波長が銅(II)錯体を還元した溶液の場合と異なることから、銅(II)錯体に還元剤を添加して反応させた溶液で得られた蛍光は錯体から遊離した配位子の蛍光ではなく銅(I)錯体の蛍光と判断した。

3.4.7 $[\text{Cu(II)(qdet)}]^{2+}$ の pH 依存性

3.4.7.1 蛍光強度からみた水素イオンによる銅(II)錯体の分解

3.4.6 の結果を基に、各 pH 緩衝液に添加した $[\text{Cu(II)(qdet)}]^{2+}$ の 400 nm の蛍光強度を 60 分間測定した。銅錯体が分解して QDETA が脱離すれば、その蛍光強度が増大するはずである。測定結果を Fig. 3-20 に示す。

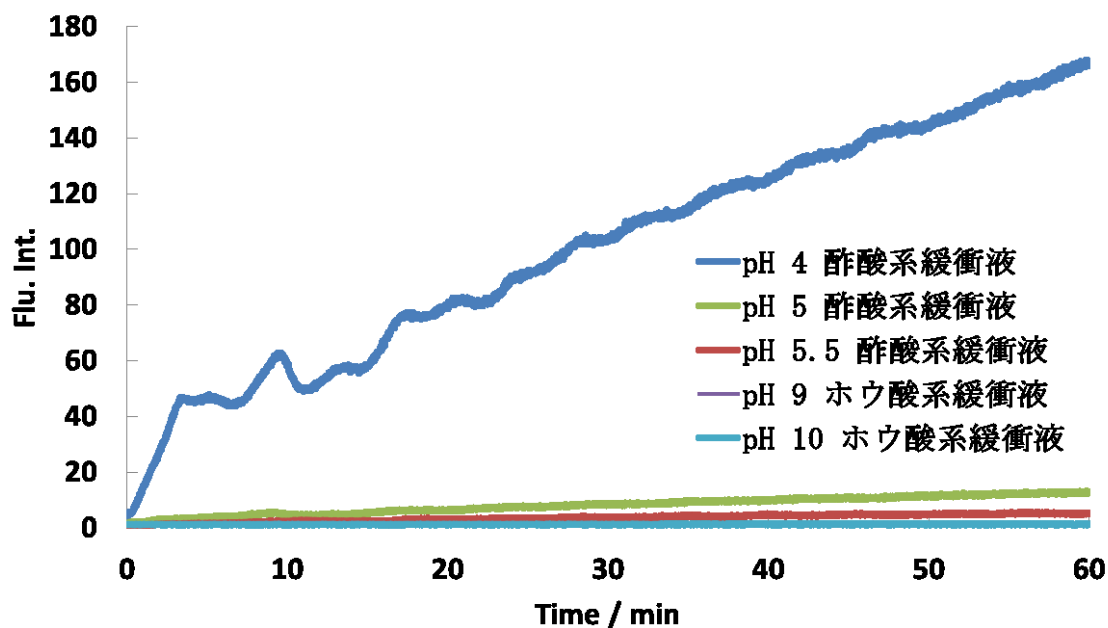


Fig. 3-20 Time course of the fluorescence intensity at 400 nm.

弱酸性では QDETA 由来と思われる蛍光強度の増大がみられた。特に pH 4 では顕著であり、pH 5、5.5 でも若干の解離が認められた。アルカリ側(pH 9、10)では水素イオンによる Cu(II) 錯体の分解はみられなかった。

3.4.7.2 吸光度からみた水素イオンによる銅(II)錯体の分解

吸光度の測定によっても銅(II)錯体の分解も確認した。本実験では 655 nm における吸収を調べた。硫酸で pH を調整したのは、硫酸イオンの配位能が低いので、水素イオンのみの影響を調べることができると考えたためである。測定結果を Table 12 に示す。

Table 12 Time course of the absorbance at 655 nm.

	Abs (at 655 nm)		
水素イオン 濃度	混合直後	1時間後	24時間後
10^{-4} M (pH 4)	0.330	0.330	0.334
5×10^{-3} M (pH 2.3)	0.242	0.242	0.241
5×10^{-2} M (pH 1.3)	0.067	—	—

錯体濃度の約 1/10 の水素イオン濃度では解離がみられないが、同濃度で 2 割程の解離がみられ、10 倍濃度であれば直ちに解離することがわかった。

3.4.8 $[\text{Cu(II)(qdeta)}]^{2+}$ を用いたバッチ法による還元剤の検出

3.4.7 の結果を踏まえてバッチ法による還元剤の検出条件を決定した。酸性側ではプロトンによる解離、強アルカリでは水酸化銅の形成が懸念されるため、還元剤を反応させる pH は 7-10 付近を検討した。錯体濃度は、濃度消光により蛍光強度減少の恐れがあるため 50-100 μM の濃度で検討した。

3.4.8.1 種々の還元剤の検出

測定結果を Fig. 3-21 に示す。

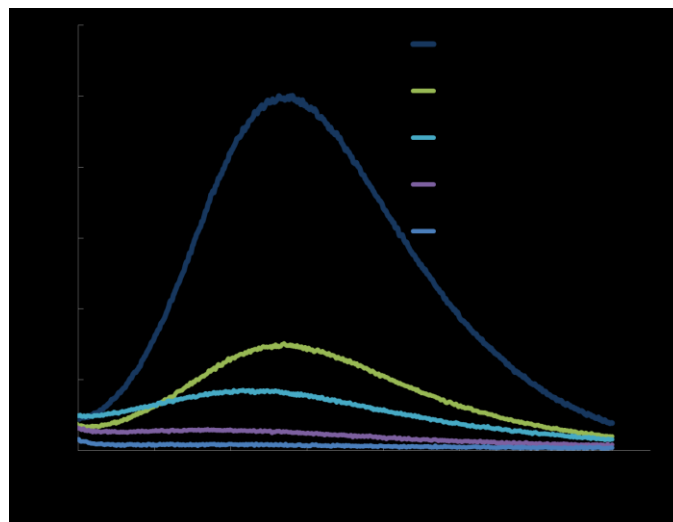


Fig. 3-21 Fluorescence spectra change of $[\text{Cu(II)(qdeta)}]^{2+}$ with reductants.

アスコルビン酸が最も強い蛍光を示した。硫酸ヒドラジニウムや塩化ヒドロキシルアンモニウムでも蛍光が認められた。

3.4.8.2 アスコルビン酸の検出

最も強い蛍光を示したアスコルビン酸の検出限界を調べた。測定結果を Fig. 3-22 に示す。

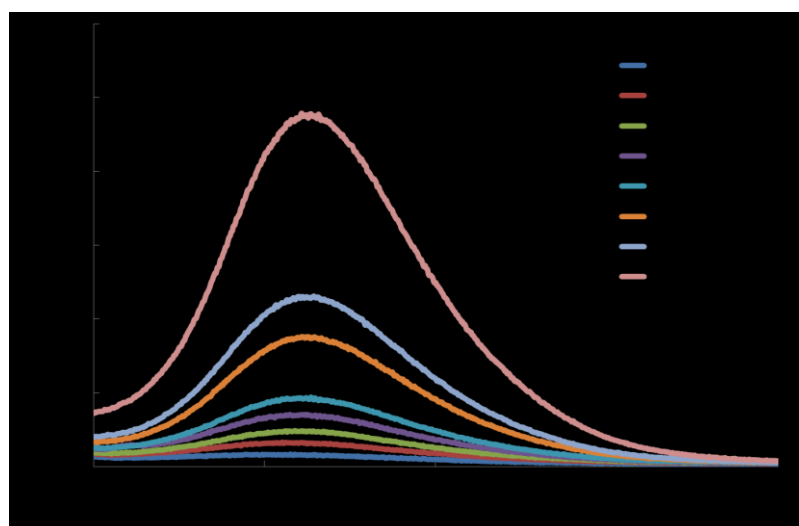


Fig. 3-22 Fluorescence spectra change of $[\text{Cu(II)(qdeta)}]^{2+}$ with ascorbic acid.

Fig. 3-21 と同様の反応条件で行った。5-200 μM のアスコルビン酸を添加し、測定したところ、定量範囲は 20-200 μM ($R^2 = 0.9991$) で検出限界は 10 μM であった。

3.4.8.3 実試料を用いた検出

アスコルビン酸はビタミン C ともよばれる有機酸の一つで、皮膚や腱、骨や血管にある繊維成分の生成にかかわっている。また食品等にも抗酸化剤として添加される。アスコルビン酸は外的要因により変化しやすいため、迅速で簡便な検出法が求められている。Fig. 3-23 に測定結果を示す。

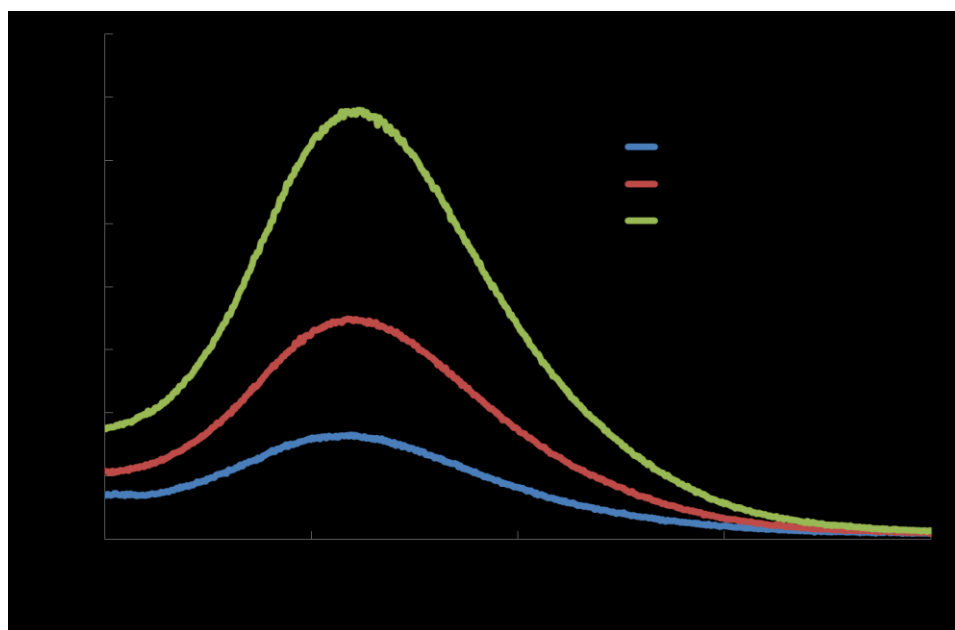


Fig. 3-23 Fluorescence spectra change of $[\text{Cu(II)(qdet)}]^{2+}$ with vitamin juice.

それぞれのスペクトルの極大値を蛍光強度としても用いた。得られた蛍光強度は比例関係になったが、3.4.8.2 の検量線を用いて求めた値と比較して、150-170%高い値となった。考えられる理由として、一つはジュースのラベル表示の有効数字は1桁のため、表示された含有量より多めに入っている可能性が考えられる。この場合、別の方法でジュースのアスコルビン酸を測定し、比較する必要がある。もう一つは、別の含有物による妨害である。蛍光がラベルの表示から計算した値より高くでているため、アスコルビン酸以外の還元性物質による還元促進が考えられる。この場合は、還元性物質を特定し、その影響を除去する必要がある。

3.5 結論

ジエチレントリアミンの第2級アミン部位にキノリル基を修飾した、四面体構造をとりやすい四座の新規蛍光性配位子 QDETA とその銅(II)錯体の合成に成功した。銅(I/II)錯体の吸光スペクトルと蛍光スペクトルを測定し、銅(I)錯体では蛍光が復活することを確認した。錯体の解離の pH 依存性は、 $[\text{Cu(II)(bqdmn)}]^{2+}$ や $[\text{Cu(II)(bqdmnp)}]^{2+}$ と比較するとアルカリに強く、弱アルカリでは解離はほとんど起こらないが、反面、酸には弱く弱酸性でも $[\text{Cu(II)(qdeta)}]^{2+}$ の濃度が低ければ、解離が起こる。これは QDETA の第1級アミン部位とプロトンとの結合力の強さによるものと思われる。蛍光強度に関しては狙い通り増強された。2章の配位子は蛍光団が2つ修飾されていたのに対し、3章の配位子は一つの蛍光団しかもたないが、蛍光団を二つもつ2章の Cu(I)錯体と比較しても遜色はなかった。しかし正確に比較するためには固体の Cu(I)錯体を単離し、その強度を測定する必要がある。バッチ法によるアスコルビン酸の検出が可能であったが、検出限界は 10 μM 程である。現時点では感度が低く改善の必要がある。

構造解析により両錯体ともその II 価錯体は平面四角形構造をとらず、四角錐構造をとっていることがわかった。蛍光強度に関しては、作業仮説を裏付ける結果となったが、還元剤との反応性は2章の錯体と比べ低くなった。原因は、本章の配位子は嵩高い配位子であり、還元剤と中心金属イオンの接触が妨げられ、反応性が低下したためと考えられる。

また類縁化合物の TMQA と亜鉛イオン錯体の蛍光について、その蛍光強度は配位している N と中心金属イオンの距離によって変化するとの報告[16]があり、銅(I)イオンと配位原子との距離も分子設計において重要であると考えられる。このことも踏まえた分子設計を行っている。

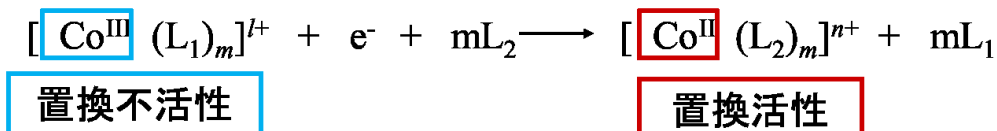
4 分析試薬としてのコバルト錯体 1 - 還元剤の間接的蛍光検出

4.1 緒言

コバルト錯体と銅錯体の大きな違いは、銅錯体は中心金属イオンの価数の違いによらず配位子置換活性であるのに対して、コバルト(III)錯体は配位子置換不活性であり、コバルト(II)錯体は配位子置換活性であることである。この反応性の違いを利用した分析法の開発を行った。

4.2 コバルト錯体を用いた還元剤の検出原理概要

コバルト錯体を利用した還元剤の検出には種々の原理があり、以下はその一例である。大きくわけて“コバルト(II)錯体を利用する方法 (a~d)”と“置換して放出された配位子を利用する方法 (e~h)”の2つのタイプがある。



- Co^{II} a. 吸光度 (金属指示薬)
b. 化学発光 (ルミノール)
c. 蛍光消光 (蛍光性配位子)
d. 蛍光増強 (金属プローブ)
- Ligand_1 e. 吸光度 (L_1)
f. 蛍光誘導 (OPA)
g. 蛍光回復 (蛍光性配位子)
h. 化学発光 (ルテニウム)

それぞれの方法について、概要を述べる。

コバルト(II)錯体を利用する方法

方法 a は、吸光度を利用した方法であり、コバルト(III)錯体とコバルト(II)錯体のモル吸光係数の差が極端にある場合か、III 価錯体と II 価錯体の極大吸収波長が大きくずれている場合に用いることができる。吸光度による検出は装置が蛍光や発光検出器に比べ安価で、流路による検出でも単純な系(単流路)で行えることが多い。しかし、添加した還元剤のコバルトへの配位能が高ければ、単純に中心金属イオンの還元が起きるだけでなく、還元剤が配位子として配位することで別の錯種を形成し、どの吸光度を用いて還元剤を測定すればよいか曖昧になってしまう欠点がある。

b は還元されて生成した II 価錯体もしくは配位子置換して生成したコバルト(II)の水和錯体が触媒となってルミノール発光することで、還元剤の検出ができる。ルミノールを用いるため非常に高感度だが、III 価錯体の時点で触媒として作用しないことが条件となる。ルミノール化学発光の触媒になるかは合成をして実際に反応させてみないと判断できないため、新規のコバルト錯体を設計するのは手探りとなり、非常に難しい。

c は一般的に遷移金属イオンが蛍光性配位子と結合するとその蛍光が消光することを利用して、あらかじめコバルト(III)錯体のほかに、蛍光性配位子と蛍光を増強させる金属イオンを添加しておき、錯体が III 価から II 価に還元されたのち、配位子置換により、コバルト(II)と蛍光性配位子が結合することで消光がおり、それを測定することで、還元剤の検出ができる。

d はあらかじめ蛍光性配位子と金属プローブをコバルト(III)錯体溶液に混ぜておく。還元され、配位子置換反応がおきれば、金属プローブの配位子とコバルト錯体の配位子の交換により遊離した金属イオンと蛍光性配位子が結合することで蛍光増強し、その蛍光を測定すれば還元剤の検出ができる。うまく配位子交換がおきれば高感度に検出できるが、反応に時間がかかる場合が多く、流路では条件 (特に時間)を設定するのが難しい。

配位子置換により解離した配位子を利用する方法

e は脱離してきた配位子そのものの吸光度を測定する方法と、あらかじめコバルトとは別の金属イオンを添加しておき、脱離した配位子と結合させ、その吸光度を測定する方法がある。前者は直接測定できるが UV の吸光検出器が必要となり、後者は配位子脱離後に錯形成が必要となるため、d と同様に流路の場合、反応時間が問題となる。

f は第 1 級アミンを配位子にもつコバルト錯体を試薬として利用する。あらかじめオルトフタルアルデヒド(OPA)を添加しておき、還元され生成されたコバルト(II)錯体から脱離してきたアミンと OPA を反応させ、蛍光誘導体にして検出を行う。

g は蛍光性配位子を配位させたコバルト(III)錯体を試薬として利用する。サンプルによって還元され、置換活性となり、脱離してきた蛍光性配位子の蛍光強度を測定することで還元剤の検出ができる。この検出法はコバルト(III)錯体の状態で消光もしくは蛍光が極端に減少していること、コバルト(II)と蛍光性配位子の錯体が分解することが条件である。

h はルテニウム錯体と反応し発光する配位子(例えばシュウ酸イオン)を含むコバルト(III)錯体を試薬として用いる。条件として、コバルト(III)錯体の状態でルテニウム錯体と反応し、化学発光しないこと、コバルトが II 価になったとき、シュウ酸イオン等が脱離することである。また、この方法は最低でも 2 流路必要となり、ルテニウム錯体を II 価から III 価へ酸化する手段が必要となる。

本章では g の方法について言及する。

4.3 蛍光性配位子の選択

Salicylic acid (H_2sa) (Fig. 4-1(a)) は、酸素を配位原子とする 2 座の蛍光性配位子として知られており、吸光光度法による鉄イオンの定量[17]にも用いられてきた。本研究では H_2sa より大きい蛍光強度が期待できる 3-Hydroxy-2-naphthoic acid (H_2hna) (Fig. 4-1(b)) と H_2hna の誘導体でありスルホ基を導入することで水溶性を増した 3-Hydroxy-7-sulfo-2-naphthoic acid (H_3hsna) (Fig. 4-1(c)) について検討を行った。

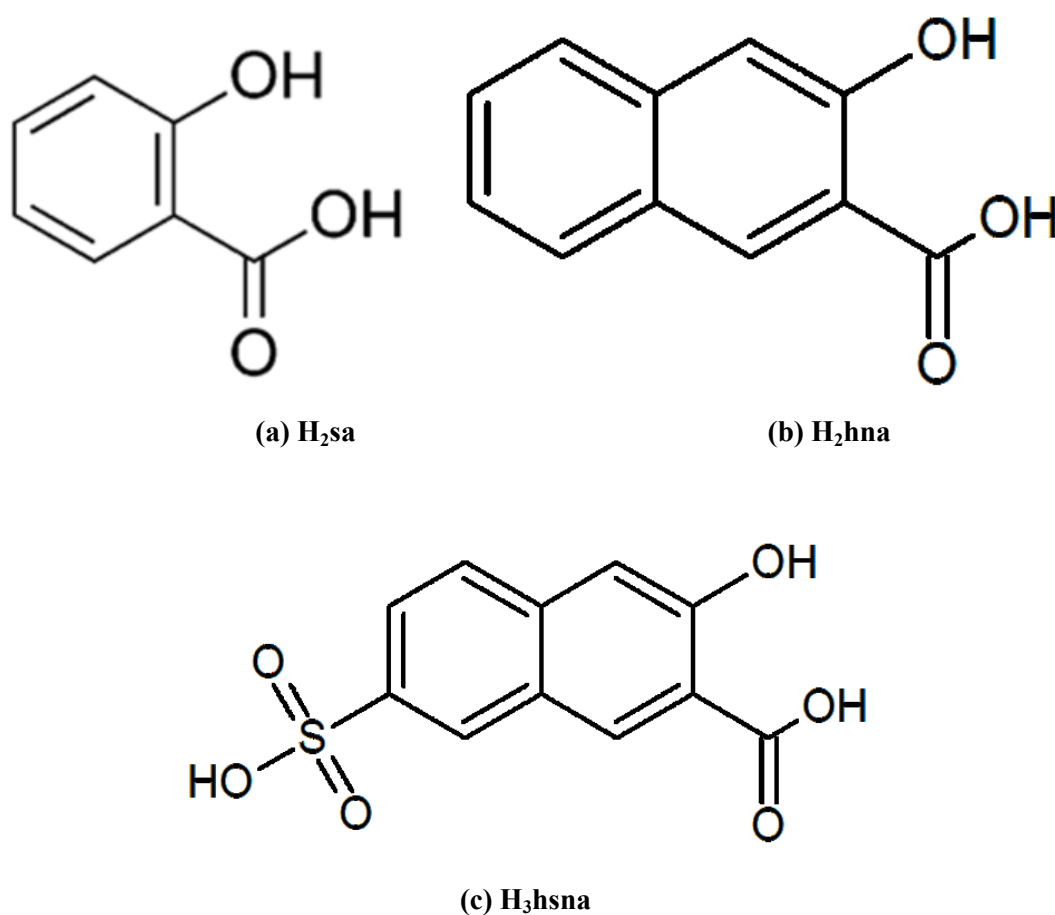
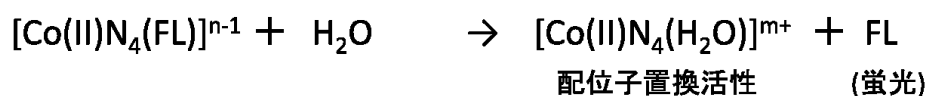
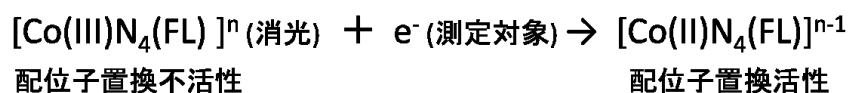


Fig. 4-1 Chemical structure of fluorescent ligands.

4.4 還元剤の検出原理

蛍光性配位子を含むコバルト錯体を利用することで、以下の原理をもちいて、還元剤の蛍光検出ができる。



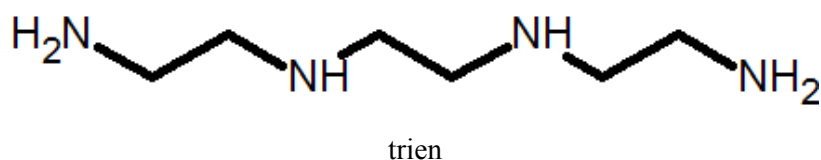
※ N_4 ; 配位原子が4つのNである配位子, FL; 蛍光性配位子

コバルト(III)錯体の状態で消光している配位子が、還元されてコバルト(II)錯体となったとき、溶媒の水と配位子置換がおこれば、溶媒中に蛍光性配位子が遊離し、復活した蛍光を測定することで、還元剤の検出ができる。また、サンプルを添加した量と蛍光量が比例すれば定量も可能となる。

4.5 実験

4.5.1 試薬

蛍光性配位子である H_2hna とその他の配位子である Triethylenetetramine (trien) は和光純薬工業株式会社製を精製せずにそのまま用いた。合成以外に用いたその他試薬も和光純薬工業株式会社製を用いた。



4.5.2 コバルト(III)錯体合成

4.5.2.1 [Co(III)(trien)(hna)]NO₃ の合成

それぞれ 0.01 mol の Co(NO₃)₂·6H₂O、trien および H₂hna を 200 mL の水に溶かし、水酸化ナトリウムで pH 11 に調整し、24 時間空気酸化した。その反応液を陽イオン交換樹脂カラムに流しこみ、目的物を吸着させたのち、未反応物質や不純物を水洗いによって除去した。0.12 M の硝酸ナトリウム水溶液で溶出させたのち、溶出液を濃縮・再結晶することにより赤茶色の結晶が得られた。合成の模式図を Fig. 4-2 に示す。

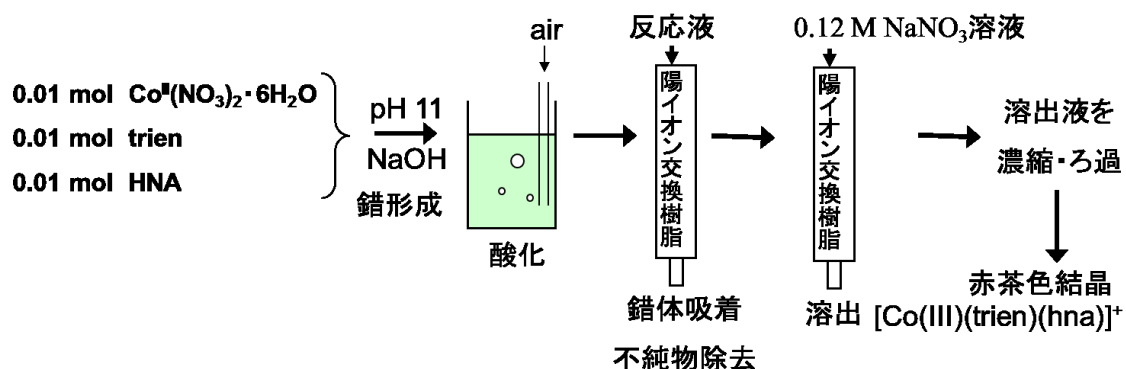


Fig. 4-2 Schematic diagram for synthesis of [Co(III)(trien)(hna)]NO₃.

4.5.2.2 [Co(III)(trien)(hsna)]の合成

それぞれ 0.01 mol の Co(NO₃)₂·6H₂O と trien、H₃hsna を 200 mL の水に溶かし、水酸化ナトリウムで pH 11 に調整し、24 時間空気酸化した。その反応液を陰イオン交換樹脂カラムに流しこみ、不純物を樹脂に吸着させ、溶出してきた溶液を濃縮・再結晶することにより赤茶色の結晶が得られた。合成の模式図を Fig. 4-3 に示す。

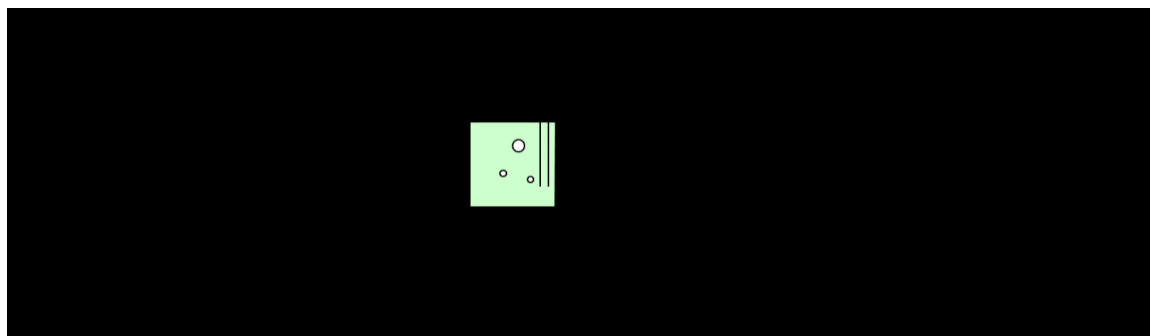


Fig. 4-3 Schematic diagram for synthesis of [Co(III)(trien)(hsna)].

4.5.3 H₂hna および[Co(III)(trien)(hna)]⁺の蛍光スペクトル

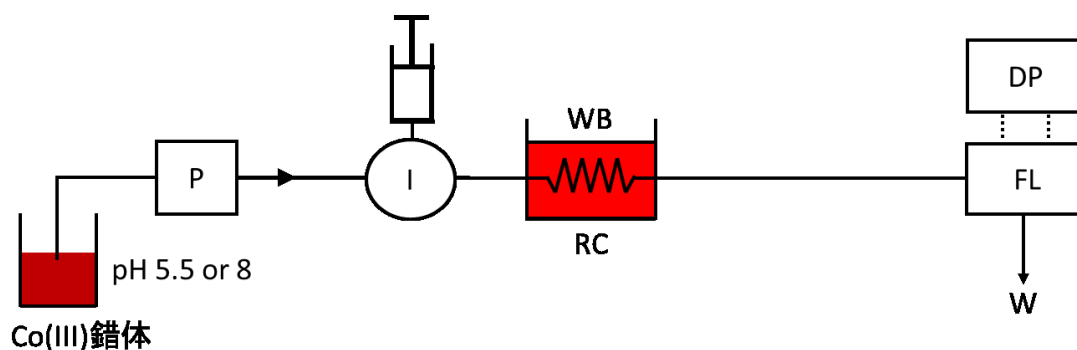
測定には蛍光スペクトルメーター RF-5300 (Shimadzu, 京都)を使用した。励起波長は文献 [7] を参考にし、354 nm を採用した。水：エタノール=1：1 の混合溶媒にそれぞれ 100 μM となるように H₂hna と [Co(III)(trien)(hna)]⁺を溶かし、リン酸塩緩衝液により pH 6 に調整して蛍光スペクトルを測定した。

4.5.4 H₂hna の蛍光強度の pH 依存性

測定は上述の蛍光スペクトルメーターを用いた。緩衝溶液で pH を 2、2.5、3、3.5、4、5 とし、励起波長を 354 nm とし、各溶液の蛍光スペクトルを測定した。

4.5.5 [Co(III)(trien)(hna)]⁺水溶液をキャリアとする蛍光検出 FIA

[Co(III)(trien)(hna)]⁺水溶液をキャリアとする FIA システムを構築した (Fig. 4-4)。



Co(III)錯体: 0.02 mM [Co(III)(trien)(hna)]⁺
(50 mM 酢酸緩衝液 pH 5.5, リン酸緩衝液 pH 8),
P: ポンプ 0.5 mL/min, I: インジェクター 20 μL,
RC: 反応コイル 3 min, WB: 水浴 60°C,
FL: 蛍光検出器 ($\lambda_{\text{ex}} = 354 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}} = 504 \text{ nm}$),
DP: データプロセッサ, W: 廃液.

Fig. 4-4 Flow diagram of the FIA-FL system.

7種類の還元剤（アスコルビン酸、塩化ヒドロキシルアンモニウム、亜ジチオン酸ナトリウム、チオ尿素、ピルビン酸ナトリウム、硫酸ヒドラジニウム、ヒドロキノン）を試料として用いた。

4.6 結果と考察

4.6.1 [Co(III)(trien)(hna)]NO₃ および[Co(III)(trien)(hsna)]の合成

両錯体ともに pH を 11 としたのは、蛍光性配位子をコバルト(III)に配位させやすくするためである。蛍光性配位子を二つ以上配位させなかったのは、定量性を確保するため、一つの錯体から遊離してくる蛍光性配位子を一つとしたかったためである。もう一つの配位子に 4 座の配位子である **trien** を選んだのは、コバルト(III)との錯形成定数とそのキレート効果により、**hna**²⁻もしくは **hsna**³⁻と比べて大きくなるため、遊離してくる配位子は優先的に 2 座の蛍光性配位子となるためである。

[Co(III)(trien)(hsna)]に関して

零価の錯体のため単離は容易であったが、水への溶解度が低くキャリアーとして用いる場合は水-アルコールの混合溶媒を用いる必要がある。そのため反応コイルでの加温により、気泡が生じる可能性があり本論文ではキャリアーとして採用しなかった。

[Co(III)(trien)(hna)]NO₃ に関して

+1 価錯体でかつ、硝酸イオンをイオン対にもつため水溶性であり、キャリアーとして使用しやすい。しかし脱離してくる **H₂hna** は水に不溶のため析出し、チューブに付着する可能性がある。しかし、溶液の pH がアルカリ性側であれば **H₂hna** は溶けるので、本論文では[Co(III)(trien)(Hna)]NO₃ 水溶液をキャリアーとして採用した。

4.6.2 H₂hna および[Co(III)(trien)(hna)]⁺の蛍光スペクトル

Fig. 4-5 は[Co(III)(trien)(hna)]⁺の蛍光強度が H₂hna の蛍光強度の 1 / 160 になっていることを示している。蛍光が残るため[Co(III)(trien)(hna)]⁺をキャリアーとして使用すればバックグラウンドによる感度低下をまねく恐れがあるが、H₂hna の蛍光強度に比べ、非常に小さいため無視できるものと考えられる。そのため、Fig. 4-4 に示した単純な流路系での検出が可能となる。

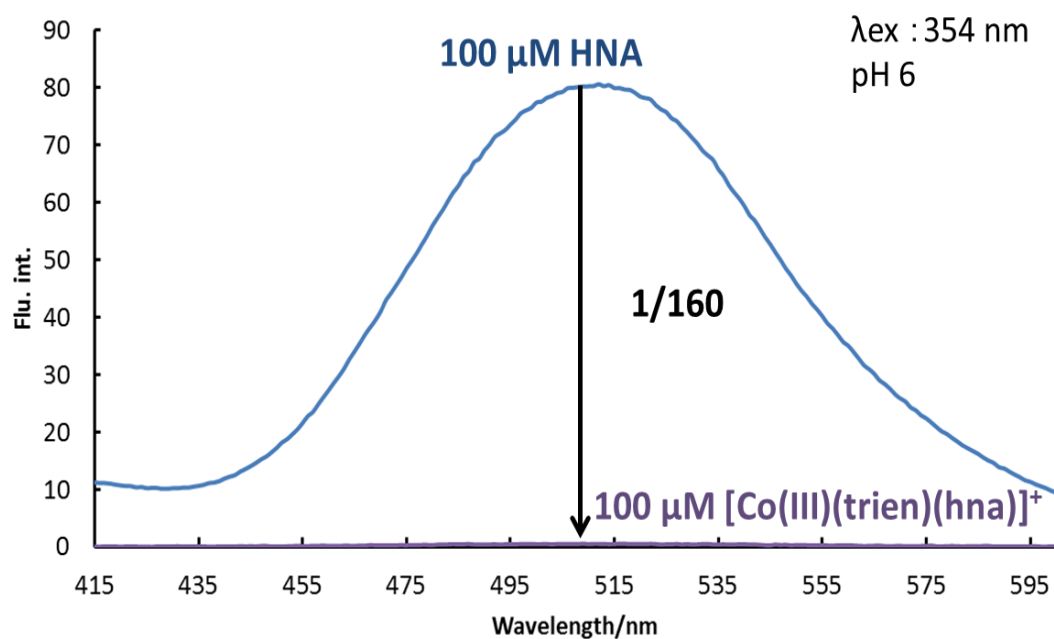


Fig. 4-5 Fluorescence spectrum of [Co(III)(trien)(Hna)]⁺ (purple line) and Hna (blue line)

Solvent: 50 mM phosphate buffer (pH6).

4.6.3 H₂hna の蛍光強度の pH 依存性

水：エタノール=1：1 の混合溶媒に 100 μ M となるように H₂hna を溶かし、pH をそれぞれ調整した溶液の蛍光スペクトルを測定した。結果を Fig. 4-6 に示す。pH が高くなるほど蛍光強度が高くなる傾向がみられ、pH 4 以上で一定となった。そこで、H₂hna の溶解度を考慮しキャリアーの pH を 5.5 以上とした。

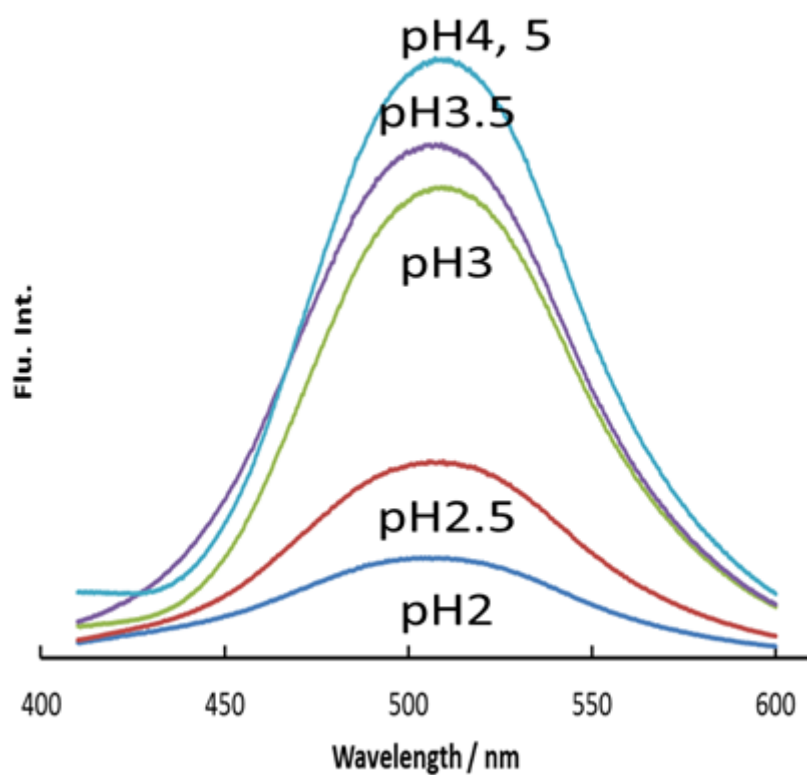


Fig. 4-6 Dependence of fluorescence intensity of H₂hna on pH.

4.6.4 [Co(III)(trien)(hna)]⁺水溶液をキャリアーとする蛍光検出 FIA

Fig. 4-7 はキャリアーの pH を 5.5 とした場合での FIA の結果示している。亜ジチオン酸ナトリウムのみ蛍光が観測され、他の試料に関しては正のピークはえられなかった。亜ジチオン酸ナトリウムに選択的と言えるが、検出限界は 0.4 mM 程であり、感度不足である。

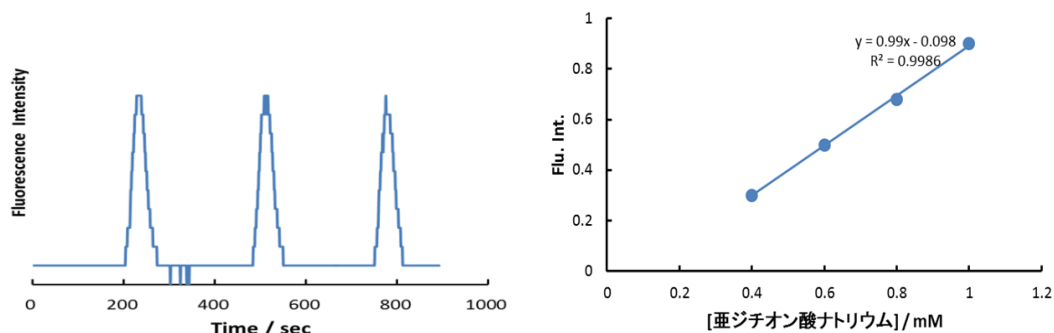


Fig. 4-7 FIA peak profiles (a) and calibration curve (b).

Fig. 4-8 はキャリアーの pH を 8 にした場合の FIA の結果である。pH 5.5 で検出された亜ジチオン酸ナトリウムは検出されず、pH 5.5 で検出されなかった還元剤が検出できるようになった。とくに塩化ヒドロキシルアンモニウムは強い蛍光を示した。

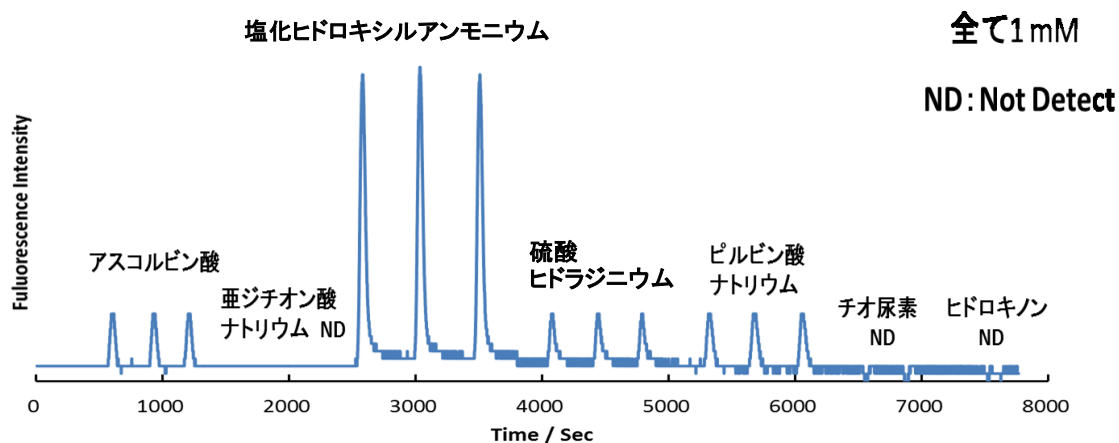


Fig. 4-8 Peak profiles of reductants.

4.7 結論

O、O 配位の H_2hna がコバルト(III)に配位した場合、蛍光が残ることが確認された。コバルト(III)錯体の状態で蛍光が残っているが、配位子のみの状態に比べ蛍光強度は大きく減少 (1/160) するため、コバルト(III)への配位による完全消光が起こった場合と同様の原理を用いて、還元剤の検出が可能であった。また H_2hna では励起光波長と蛍光波長が大幅にずれている (150 nm) ため迷光によるバックグラウンド上昇が起こらず。感度低下が抑制されている。pH 5.5 では亜ジチオン酸ナトリウムに選択的であるが感度不足のため、感度の改善が必要である。pH 8 では複数の還元剤が検出されるため実試料へ適用する際はカラムなどによる試料の分離が必要となる。感度を改善するためには、遊離する H_2hna の物質量を増やす必要がある。コバルト(III)錯体の還元電位を高くするような配位子や、 $[\text{Co(III)(trien)(hna)}]^+$ に比べ安定度が低くなるような配位子を検討することで改善が望めると考えられる。

5 総括

本研究は、金属イオンに配位したときに、変化（蛍光もしくは消光）が現れるような配位子および遷移金属錯体（主に銅、コバルト）の合成を主眼にしている。遷移金属錯体はその特徴的な酸化還元反応、配位子置換反応により分析試薬として利用できる。

本論文で主にとりあげた銅錯体は酸化還元反応により、中心金属イオンの価数が変わるだけでなく、その分子構造が変化するという他の遷移金属イオンにはほとんどみられない特徴的な性質がある。他にも II 価と I 価で常磁性と反磁性の違いを生じることで、配位子の蛍光が消失したり、復活したりすることが理論上考えられる。しかし、実際に消光する例も多く、その原因は構造変化にエネルギーが消費されるためとの仮説をたて、配位子を設計した。その結果、これまで報告例のほとんどなかった単純な単核銅(I)錯体の水溶液中での蛍光を達成することができた。まだ蛍光量子収率は低く、改善の余地はあるが、珍しい例であり分析化学的にも、また錯体化学的にもこれらの錯体についてさらに詳細に研究する価値があると考えている。また X 線構造解析により II 価錯体の構造が明確となり、錯体が理想的構造からどれだけ歪んでいるか判明したことで、作業仮説の証明に一步前進したといえる。あとは I 価錯体の構造が判明すれば作業仮説はほぼ証明されると考える。構造変化によるエネルギー消費は蛍光強度的には不利ではあるが、例えばゲルに銅錯体を組み込んだ場合、価数の変化によって親水性が変化し、その膨潤率が変化するほかに、構造の変化による、弾性率の変化といった劇的な変化を起こす可能性があり、機能性材料への応用等が期待される。

コバルト錯体では銅錯体のような構造変化は起こらないものの、III 価と II 価で配位子の置換速度が劇的に異なる。コバルト錯体を分析試薬として用いた場合、配位子置換によって遊離してきた配位子を利用する系が多い。すなわち、反応としてはコバルトの III 価から II 価へ還元、配位子置換の 2 段階である。III 価錯体の還元電位が低すぎれば、還元反応が起こらない。還元反応が起こったとしてもコバルト(II)イオンと配位子の結合力が強ければ、配位子置換が起こりにくい等の様々な課題があり、分析試薬として優れた性能を持つコバルト錯体の設計は非常に難しい。

遷移金属錯体では、中心金属イオンの価数の変化により様々な物理・化学的な性質(吸光度、蛍光(消光)、錯体構造)の変化が起こる。それらの変化は分析試薬としての応用のみならず、様々な機能性の付与に繋がる。中心金属イオンの電子移動によるスイッチン

グは「電氣的な異性体」を即座に生成し、その可能性は計り知れない。

今後、分析試薬としてだけでなく、遷移金属錯体を利用した機能性材料の開発も視野に入れ、研究を行っていきたいと考えている。

謝辞

本研究を行うにあたり、研究室に受け入れてくださり、また終始御指導頂いた神戸大学人間発達環境学研究科 齊藤恵逸教授に厚く御礼申し上げます。また本論文の審査にあたり、快く審査員をお引き受けくださり、貴重な御助言を頂いた神戸大学人間発達環境学研究科 寺門靖高教授、江原靖人准教授、白杉直子教授、脇田慎一教授に深く感謝致します。さらに、本研究の共同研究者として終始御支援、御助言を頂いた岡山理科大学理学部 山崎重雄教授に心から感謝致します。

本研究を推進するにあたり、江原研究室には合成器具ならびに蛍光検出器をお貸し頂き、神戸大学人間発達研究科 大串健一准教授には元素分析装置をお貸し頂きました。また、X線構造解析においては岡山理科大学理学部 坂根弦太准教授に行って頂きました。皆様に深く感謝致します。

最後に 3 年半の長きにわたり良い研究環境を提供してくださった神戸大学発達科学部齊藤研究室の皆様に厚く御礼申し上げます。

参考文献

- [1] M. Iwamura, H. Watanabe, K. Ishii, S. Takeuchi, and T. Tahara, *J. Am. Chem. Soc.*, **2011**, 133 7728
- [2] A. W. Varnes, R. B. Dodson, E. L. Wehry, *J. Am. Chem. Soc.* **1972**, 94, 946.
- [3] C.J. Frederickson, E.J. Kasarskis, D. Ringo, and R.E. Frederickson, *J. Neurosci. Methods* **1987**, 20, 91.
- [4] P. D. Zalewski, I. J. Forbes, and W. H. Betts, *Biochem. J.* **1993**, 296, 403.
- [5] Y. Mikata, M. Wakamatsu, A. Kawamura, N. Yamanaka, S. Yano, A. Odani, K. Morihiro, and S. Tamotsu, *Inorg. Chem.* **2006**, 45, 9262.
- [6] G. M. Cockrell, G. Zhang, Do. G. VanDerveer, R. P. Thummel, and R. D. Hancock, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, 130, 1420.
- [7] T. Tsubomura, T. Tsukuda and K. Matsumoto, *Bull. Jpn. Soc. Coord. Chem.* **2008**, 52, 29.
- [8] V. A. Rapisarda, S. I. Volentini, R. N. Farias, and E. M. Massa, *Anal. Biochem.*, **2002**, 307, 105.
- [9] H. Kim and B. A. Ahner, *Anal. Chim. Acta*, **2006**, 575, 223.
- [10] B. Rieger, A. S. Abu-Surrah, R. Fawzi, and M. Steiman, *J. Organomet. Chem.*, **1995**, 497, 73.
- [11] Y. Mikata, H. So, A. Yamashita, A. Kawamura, M. Mikuriya, K. Fukui, A. Ichimura, and S. Yano, *Dalton Trans.* **2007**, 3330.
- [12] A.S. Abu-Surrah, *Asian. J. Chem.* **2002**, 14, 1251.
- [13] Y. Mikata, A. Yamashita, A. Kawamura, H. Konno, Y. Miyamoto, and S. Tamotsu, *Dalton Trans.*, **2009**, 3800.
- [14] N. Wei, N. N. Murthy, Q. Chen, J. Zubietta, and K. D. Karlin, *Inorg. Chem.* **1994**, 33, 1953.
- [15] P. L. Anelli, L. Lunazzi, F. Montanari, and S. Quici, *J. Org. Chem.*, **1984**, 49, 4197
- [16] N. J. Williams, W. Gan, J. H. Reibenspies and R. D. Hancock, *Inorg. Chem.* **2009**, 48, 1407.
- [17] J.P. Mehlig, *Ind. Eng. Chem. Anal. Ed.*, **1938**, 10 (3), 136.

研究業績

[投稿論文]

1. Makoto SAGA, Tatsuya ANAMUSHI, Wakayo MIYAHARA, Shigeo YAMAZAKI, and Keiitsu SAITO, *Anal. Sci.* **2015**, *31*, 185
“Fluorescent Character of Cu(I/II) Complexes with Bisquinoline-based Ligands and Fluorometric Detection of Reductants”
2. Makoto SAGA, Genta SAKANE, Shigeo YAMAZAKI, and Keiitsu SAITO, *X-ray Structure Analysis Online* (Received June 12, 2015; Accepted July 3, 2015)
“Crystal Structure of a Copper(II) Complex with N,N'-Bis(2-methylquinolyl)dimethyl-1,3-propanediamine”

[学会発表]

口頭発表

1. ○嵯峨 慎, 山崎 重雄, 齋藤 恵逸, 宮原 稚世, 山崎 華佳, 日本分析化学会第 59 年会, 2010, 9, 仙台. 「Co(III)錯体の酸化力を利用した還元剤の蛍光検出」
2. ○嵯峨 慎, 日本分析化学会中国四国支部・岡山地区分析技術懇談会, 2012, 3, 岡山.
「Cu(I)錯体の蛍光性を利用した分析試薬」

ポスター発表

1. 山崎 華佳, ○嵯峨 慎, 山崎 重雄, 永井めぐみ, 宮原 稚世, 日本化学会第 91 春季年会, 2011, 3, 横浜. ※震災により中止となったが発表したものとみなすとの公式発表あり. 「コバルト錯体の反応性を利用した FIA」
2. ○嵯峨 慎, 宮原 稚世, 山崎 重雄, 齋藤 恵逸, 錯体化学会第 61 回討論会, 2011, 9, 岡山. 「蛍光性配位子をもつ金属錯体を利用した分析法の開発」

3. ○嵯峨 慎, 齋藤 惠逸, 山崎 重雄, 宮原 稚世, 大西 未菜, 第 72 回分析化学討論会, 2012, 5, 鹿児島. 「 β -ヒドロキシナフトエ酸-Fe(III)錯体をキャリアーとする還元剤の蛍光検出 FIA」
4. ○嵯峨 慎, 齋藤 惠逸, 山崎 重雄, 日本分析化学会第 61 年会, 2012, 9, 金沢.
「蛍光性配位子を持つ銅錯体を利用した還元剤の蛍光検出」
5. ○嵯峨 慎, 山崎 重雄, 齋藤 惠逸, 生物発光化学発光研究会第 30 回学術講演会, 2013, 11, 東京 「蛍光性配位子を含む Cu(I)錯体の蛍光を利用した還元剤の分析法の開発」
6. ○嵯峨 慎, 山崎 重雄, 齋藤 惠逸, 日本分析化学会第 63 年会 2014, 9, 広島
「蛍光性配位子を含む銅錯体を利用したアスコルビン酸の蛍光検出」